

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Departamento de Estomatología II (Odontología Conservadora)



TESIS DOCTORAL

**Análisis del comportamiento de dos tipos de agregado trióxido mineral
en relación a variaciones en su composición**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Ana Antoranz Pereda

Directores

Ernesto García Barbero
Daniel Rodríguez Pérez

Madrid, 2016

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA II
(Odontología Conservadora)**



**ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO DE DOS
TIPOS DE AGREGADO TRIÓXIDO MINERAL EN
RELACIÓN A VARIACIONES EN SU
COMPOSICIÓN**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

Ana Antoranz Pereda

Bajo la dirección de los Doctores

**Ernesto García Barbero
Daniel Rodríguez Pérez**

Madrid, 2015

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA II
(Odontología Conservadora)**



**ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO DE DOS
TIPOS DE AGREGADO TRIÓXIDO MINERAL EN
RELACIÓN A VARIACIONES EN SU
COMPOSICIÓN**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

Ana Antoranz Pereda

Bajo la dirección de los Doctores

**Ernesto García Barbero
Daniel Rodríguez Pérez**

Madrid, 2015



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

DEPARTAMENTO
DE ODONTOLOGÍA CONSERVADORA

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

Plaza de Ramón y Cajal, s/n.
Ciudad Universitaria
28040 Madrid

ERNESTO GARCÍA BARBERO, PROFESOR TITULAR DEL
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGÍA CONSERVADORA DE LA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE
MADRID,

CERTIFICA: que el siguiente trabajo titulado "ANÁLISIS DEL
COMPORTAMIENTO DE DOS TIPOS DE AGREGADO TRIÓXIDO MINERAL
EN RELACIÓN A VARIACIONES EN SU COMPOSICIÓN" ha sido realizado
bajo mi dirección por Dña. Ana Antoranz Pereda y reúne, en mi criterio, los
requisitos y méritos suficientes para optar, mediante el mismo, al grado de
Doctor en Odontología por la Universidad Complutense de Madrid.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmo el presente certificado en
Madrid a 17 de septiembre de dos mil quince.


Fdo. Prof. Dr. Ernesto García Barbero
PROFESOR TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE
ODONTOLOGÍA CONSERVADORA

DANIEL RODRÍGUEZ PÉREZ, PROFESOR CONTRATADO DOCTOR DEL DEPARTAMENTO DE FÍSICA MATEMÁTICA Y DE FLUIDOS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE EDUCACIÓN A DISTANCIA,

CERTIFICO: que el siguiente trabajo titulado **“ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO DE DOS TIPOS DE AGREGADO TRIÓXIDO MINERAL EN RELACIÓN A VARIACIONES EN SU COMPOSICIÓN”** ha sido realizado bajo mi dirección por Dña. Ana Antoranz Pereda y reúne, en mi criterio, los requisitos y méritos suficientes para optar, mediante el mismo, al grado de Doctor en Odontología por la Universidad Complutense de Madrid.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmo el presente certificado:

En Madrid, a 17 de septiembre de dos mil quince

A large, faint, light-gray watermark of the UNED logo is visible in the background of the lower half of the page.

Fdo. Daniel Rodríguez Pérez
PROFESOR CONTRATADO DOCTOR
DEPARTAMENTO DE FÍSICA MATEMÁTICA Y DE FLUIDOS
UNED

A mi abuela, por seguir ahí.

***A mis padres y hermanos,
por creer que con trabajo y
esfuerzo todo es posible.***

***A David, por apoyar
todas mis decisiones.***

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar querría reconocer a los Doctores que codirigen esta tesis, el esfuerzo y trabajo realizado. Muchas gracias por la infinita paciencia que habéis tenido conmigo, los numerosos cambios en las citas que he hecho y la poca dedicación que, en algunos momentos, le he podido dar a este trabajo.

Para el Dr. Ernesto García Barbero sólo tengo palabras de agradecimiento por haberme dado la oportunidad de adentrarme y descubrir el campo de la Endodoncia. Quizás nunca llegues a comprender la felicidad que sentí al aceptarme en el máster y que accedieras a formar parte de este trabajo.

El papel del Dr. Daniel Rodríguez Pérez ha sido fundamental para la consecución de esta tesis. Todavía me sorprende que quisieras participar en esta aventura. A parte de la infinita paciencia y capacidad de trabajo que has demostrado, destacaría tu entusiasmo ante los retos que nada tienen que ver con tu formación. ¡Cómo envidio todas esas cualidades!

Por supuesto, no se podría haber llevado esta tesis sin el trabajo de los Dres. Santiago Martín y Ángel Maroto. Muchas gracias por vuestro tiempo, dedicación y atenciones.

Mención especial merecen los integrantes del Departamento de Física Matemática y Fluidos de la Universidad Nacional de Educación a Distancia. Sólo puedo destacar lo mucho que me habéis enseñado y ayudado (cambiar bombillas del microscopio, desenroscar la cámara, dejarme portamuestras que nunca he devuelto), pero sobre todo, que quedo con los ánimos para poder afrontar los momentos más bajos....

De los compañeros del Departamento de Odontología Conservadora de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense, quisiera agradecerle a la Dra. Lucía Gancedo que me diera la bibliografía desde la que se empezó a construir esta tesis. A la Dra. Natalia Montalvo, la atención y compañía durante las horas de laboratorio. Y, por supuesto, a Mari Carmen Gómez por haberme ayudado en todo lo que he necesitado durante todo este tiempo (material, llaves del laboratorio, café...).

De los profesores de la Universidad Europea tengo que destacar la paciencia que han tenido conmigo desde que entré a trabajar con ellos. Gracias por haber sido tan comprensivos conmigo, por animarme, por cambiarme los turnos de trabajo y, sobre todo, por tratar de trivializarlo todo.

Muchas gracias a los compañeros de trabajo de las clínicas. Sin vuestra comprensión y colaboración durante estos años habría sido imposible poder terminar este estudio.

Un reconocimiento especial merece Ana Marinas por haber revisado el formato del trabajo, Joanne Egnatchik por la traducción del resumen e Irene Marinas por el apoyo tecnológico y emocional de este tiempo. ¡Muchísimas gracias!

Desde aquí querría devolver todo el ánimo que yo he recibido de su parte, a mis amigas que están a punto de terminar sus tesis. Marta, Bárbara y Ruth, ¡lo tenéis ya casi hecho.....!

¡Y qué decir de mis amigos! Mil gracias por entender todas las veces que he dicho que “no puedo” durante este tiempo. Irene, Sara, Fer, David, Lu, Idoia, Tamar, Loli, Rocío, Alberto, Marta, Bego, Ana y María José, un trocito de esta tesis es vuestra.....

Sólo puedo agradecer de corazón a mis padres y hermanos la suerte que he tenido con ellos. Soy consciente de haberos dejado de lado en muchos momentos y haber sido un tanto egoísta este tiempo. Y, sin embargo, ahí habéis estado vosotros con vuestro apoyo, comidas caseras, palabras de ánimo, estancias en Ibiza, correcciones y confianza infinita. Sin vosotros, jamás habría podido hacerlo.

A David, quien a pesar de todo, ha aguantado estoicamente esta etapa a mi lado. ¡Te prometo que lo mejor está por llegar.....!

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	5
ABREVIATURAS.....	9
JUSTIFICACIÓN	11
HIPÓTESIS DE TRABAJO	13
OBJETIVOS	15
INTRODUCCIÓN	17
1. CARACTERIZACIÓN DE LOS MATERIALES ENDODÓNTICOS MEDIANTE HERRAMIENTAS FÍSICAS	21
1.1. Nuevas bases de los materiales endodónticos	21
1.2. Material ideal en endodoncia	21
1.3. Caracterización de los materiales	22
1.3.1. Composición	22
1.3.2. Tamaño y forma de las partículas que integran el material	27
1.3.3. Comportamiento del material: adaptación a dentina	31
1.3.4. Estudio del color.....	38
2. OBJETIVOS EN ENDODONCIA.....	41
2.1. Evolución de los materiales de sellado endo- periodontales en Endodoncia.....	42
3. AGREGADO TRIÓXIDO MINERAL.....	45
3.1. ProRoot®. Ángelus®	45
3.2. Composición del MTA.....	45
2.3.1. Diferencias entre MTA y cemento Pórtland	46
3.2.2. Diferencias entre MTA ProRoot® y MTA Ángelus®	47
3.3. Mecanismo de acción del MTA	47
3.4. Manejo del MTA	48
3.5. Biocompatibilidad	49
3.5.1. Pruebas de citotoxicidad	50
3.5.2. Reacción inflamatoria	51
3.5.3. Diferenciación odontoblástica	52
3.6. Tamaño y forma de las partículas de MTA.....	52
3.7. Indicaciones actuales del MTA	54
3.7.1. Pulpotomías	55

3.7.2.	Recubrimientos pulpaes directos	55
3.7.3.	Tapones apicales	56
3.7.4.	Perforaciones radiculares.....	57
3.7.5.	Cirugía periapical.....	58
3.7.6.	Obturación coronaria	59
3.8.	Evolución del MTA: color.....	59
3.8.1.	Diferencias entre MTA blanco y gris	60
3.9.	Adaptación MTA-dentina	60
4.	PROBLEMÁTICA ACTUAL DEL AGREGADO TRIÓXIDO MINERAL	61
4.1.	Manejo del MTA: mejor adaptación a las paredes dentinarias	61
4.2.	Estética: Cambio de color MTA/diente. Causas	62
4.2.1.	Composición del MTA blanco.....	62
4.2.2.	Contaminación por sangre	63
4.2.3.	Productos blanqueantes	63
4.2.4.	Preparación de las muestras en condiciones anaerobias	63
	MATERIALES Y METODOLOGÍA	65
A.	COMPOSICIÓN DEL MTA	67
A.1.	MATERIALES PARA EL ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN DEL MTA.....	67
A.2.	METODOLOGÍA PARA EL ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN DEL MTA	68
A.2.1.	DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE LOS MTA MEDIANTE EDX	68
A.2.1.1.	Preparación de las muestras	68
A.2.1.2.	EDX+SEM para el estudio la composición del polvo de MTA y MTA fraguado.....	71
A.2.1.3.	Análisis estadístico	73
A.2.2.	DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE LOS MTA MEDIANTE XPS	73
A.2.2.1.	Preparación de las muestras	73
A.2.2.2.	XPS para el estudio de la composición de MTA polvo y fraguado	74
B.	TAMAÑO, FORMA Y DISTRIBUCIÓN DE LAS PARTÍCULAS DE MTA.....	77
B.1.	MATERIALES PARA EL ESTUDIO DE TAMAÑO, FORMA Y DISTRIBUCIÓN DE LAS PARTÍCULAS DE MTA	77
B.2.	METODOLOGÍA PARA EL ESTUDIO DE TAMAÑO, FORMA Y DISTRIBUCIÓN DE LAS PARTÍCULAS DE MTA	78
B.2.1.	Preparación de la suspensión de MTA.....	78
B.2.2.	Preparación del portamuestras	79
B.2.3.	Metalizado de la muestra	79

B.2.4. Muestreo con el SEM	80
B.2.5. Análisis de las imágenes.....	81
B.2.5.1. Abrir la imagen	81
B.2.5.2. Aplicación del filtro gaussiano.....	81
B.2.5.3. Segmentación de la imagen	81
B.2.5.4. Ajuste del umbralizado: máxima entropía	82
B.2.5.5. Erosión y dilatación de las partículas	82
B.2.5.6. Análisis de la segmentación.....	84
B.2.5.7. Análisis de las partículas.....	84
B.2.6. Estudio del tamaño de las partículas	84
B.2.7. Estudio de la forma de las partículas	85
B.2.7.1. Factores de los que depende la circularidad.....	86
B.2.7.2. Correcciones de los resultados de circularidad.....	86
C. ADAPTACIÓN MTA-DENTINA	89
C.1. MATERIALES PARA EL ESTUDIO DE LA ADAPTACIÓN MTA-DENTINA	89
C.2. METODOLOGÍA PARA EL ESTUDIO DE LA ADAPTACIÓN MTA-DENTINA.....	92
C.2.1. OBTENCIÓN DE LOS DIENTES	92
C.2.1.1. Comité de Ensayos Clínicos	92
C.2.1.2. Criterios de inclusión de los dientes utilizados	92
C.2.1.3. Consentimiento informado	92
C.2.1.4. Extracción y mantenimiento de los dientes	93
C.2.2. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS	93
C.2.2.1. Distribución de los dientes	93
C.2.2.2. Obtención y mantenimiento de los discos de dentina.....	94
C.2.2.3. Confección de moldes para los discos de dentina.....	95
C.2.2.4. Realización de la cavidad en el disco de dentina para el MTA.....	95
C.2.2.5. Preparación del MTA	96
C.2.2.6. Relleno de la cavidad con MTA.....	97
C.2.2.7. Conservación de los discos de dentina con el MTA.....	97
C.2.3. MICROSCOPIO ÓPTICO.....	98
C.2.3.1. Aparatología empleada	98
C.2.3.2. Obtención de imágenes de las muestras mediante el microscopio óptico	99
C.2.3.3. Consecución de una única imagen a partir de las obtenidas mediante el programa "QCapture"	102

C.2.3.4. Clasificación final de las muestras	103
C.2.4. ESTUDIO DE LA ADAPTACIÓN EN SUPERFICIE DE LAS MUESTRAS.....	104
C.2.4.1. Confección de réplicas de silicona.....	104
C.2.4.2. Ajustes de iluminación de las muestras en el microscopio óptico	105
C.2.4.3. Obtención de imágenes de reflexión y transiluminación mediante el microscopio óptico	106
C.2.4.4. Consecución de una imagen final de reflexión y transiluminación a partir de las obtenidas mediante el programa “QCapture”	106
C.2.4.5. Estudio de la imagen original, de reflexión y de transiluminación de cada una de las muestras.....	106
C.2.4.6. Estudio de las imágenes de transiluminación	107
C.2.5. ESTUDIO DE LA ADAPTACIÓN EN PROFUNDIDAD DE LAS MUESTRAS.....	111
C.2.5.1. Corte vertical de las muestras	111
C.2.5.2. Muestras cortadas de MTA-dentina.....	111
C.2.5.3. Obtención de imágenes de reflexión y transiluminación de las muestras cortadas	112
C.2.5.4. Estudio de las imágenes original, de reflexión y transiluminación de cada una de las muestras.....	112
C.2.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	114
D. CAMBIO DE COLOR DEL MTA	117
D.1. MATERIALES DE CAMBIO DE COLOR DEL MTA	117
D.2. METODOLOGÍA DE CAMBIO DE COLOR DEL MTA	118
D.2.1. Toma de fotografías del color del MTA en superficie.....	118
D.2.1.1. Toma de imágenes de MTA recién preparado	119
D.2.2. Corte vertical de las muestras	119
D.2.3. Toma de las fotografías de las muestras cortadas	119
D.2.4. Estudio de las imágenes de los dientes en superficie, en profundidad y del MTA recién preparado mediante el programa FIJI	120
D.2.5. Dendrogramas de las muestras sin cortar	121
D.2.6. Clasificación de la textura del color del MTA en las muestras cortadas	122
D.2.7. Análisis estadístico	123
RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	125
A. COMPOSICIÓN DEL MTA	127
A.1. RESULTADOS	127
A.1.1. DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE LOS MTA MEDIANTE EDX	127
A.1.1.1. Resultados de la composición del polvo de MTA con EDX.....	127

A.1.1.2. Resultados de composición del MTA fraguado con EDX.....	129
A.1.1.3. Combinación de resultados del MTA polvo y fraguado con EDX	130
A.1.1.4. Comparación entre los diferentes lotes de MTA polvo	132
A.1.1.5. Comparación de los resultados de EDX para el polvo de MTA	135
A.1.1.6. Comparación de los resultados de EDX entre MTA polvo y fraguado	135
A.1.2. DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE LOS MTA MEDIANTE XPS	136
A.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	137
A.2.1. TRANSFORMACIÓN DE LOS RESULTADOS	137
A.2.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS DE COMPOSICIÓN DEL MTA CON RESPECTO A OTRAS PUBLICACIONES	140
A.2.2.1. EDX para el estudio del polvo de MTA	140
A.2.2.2. EDX para el estudio de la composición de los MTA fraguados	141
A.2.2.3. XPS para el estudio de P polvo	142
A.2.3. DIFERENCIAS EN LA COMPOSICIÓN DE LOS MTA DE ESTE ESTUDIO	143
A.2.3.1. Diferencias entre la composición del polvo de MTA con EDX.....	143
A.2.3.2. Diferencias entre la composición de MTA polvo y fraguado con EDX	144
A.2.3.3. Diferencias en la composición de los MTA con XPS	144
B. TAMAÑO, FORMA Y DISTRIBUCIÓN DE LAS PARTÍCULAS DE MTA.....	145
B.1. RESULTADOS	145
B.1.1. IMÁGENES DE EJEMPLO DE CADA MTA ANTES Y DESPUÉS DE LA SEGMENTACIÓN ..	145
B.1.2. RESULTADOS DEL TAMAÑO DE LAS PARTÍCULAS DE MTA	146
B.1.2.1. Representación gráfica de los histogramas.....	146
B.1.2.2. .Resultados descriptivos del tamaño de las partículas.....	148
B.1.3. RESULTADOS DE LA FORMA DE LAS PARTÍCULAS DE MTA	148
B.1.3.1. Representación gráfica de la forma de las partículas.....	148
B.1.3.2. Resultados descriptivos de la forma de las partículas.....	150
B.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	151
B.2.1. PUNTOS DE INTERÉS DE LA METODOLOGÍA EMPLEADA	151
B.2.2. PUESTA A PUNTO DE NUESTRA METODOLOGÍA: CALIDAD DEL MUESTREO REALIZADO	152
B.2.3. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS DEL TAMAÑO DE LAS PARTÍCULAS DE MTA	153
B.2.3.1. Transformación de los resultados de tamaño de las partículas de MTA	153
B.2.3.2. Información aportada por los histogramas ajustados para cada MTA ...	157
B.2.3.3. Discusión de los resultados de tamaño de las partículas de MTA	158
B.2.4. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA FORMA DE LAS PARTÍCULAS DE MTA	161

B.2.4.1. Transformación de los resultados de la forma de las partículas.....	161
B.2.4.2. Discusión de forma de las partículas de MTA	161
C. ADAPTACIÓN MTA-DENTINA.....	163
C.1. RESULTADOS	163
C.1.1. RESULTADOS DE LA ADAPTACIÓN MTA-DENTINA A NIVEL SUPERFICIAL.....	163
C.1.1.1. Validación de la clasificación visual por un método cuantitativo	164
C.1.1.2. Muestras con gaps en superficie	166
C.1.2. RESULTADOS DE ADAPTACIÓN MTA-DENTINA EN PROFUNDIDAD	170
C.1.2.1. Resultados descriptivos de los gaps en profundidad	170
C.1.2.2. Presencia de gaps en relación al tipo de MTA y uso de ultrasonidos	174
C.1.2.3. Presencia de gaps en relación al tipo de diente	175
C.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	175
C.2.1. PUNTOS DE INTERÉS EN LA METODOLOGÍA EMPLEADA	175
C.2.1.1. Diferencias entre las imágenes del SEM y microscopía óptica.....	179
C.2.2. DISCUSIÓN DE LA ADAPTACIÓN MTA-DENTINA A NIVEL SUPERFICIAL	181
C.2.2.1. Eficacia de la clasificación visual.....	181
C.2.2.2. Estudio de la adaptación MTA-dentina a nivel superficial	182
C.2.2.3. Estudio de la adaptación MTA-dentina en profundidad	187
D. CAMBIO DE COLOR DEL MTA	191
D.1. RESULTADOS	191
D.1.1. RESULTADOS DE CAMBIO DE COLOR DEL MTA A NIVEL SUPERFICIAL	191
D.1.2. RESULTADOS DE CAMBIO DE TEXTURA DEL MTA EN PROFUNDIDAD.....	195
D.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	198
D.2.1. PUNTOS DE INTERÉS DE LA METODOLOGÍA EMPLEADA.....	198
D.2.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	199
D.2.2.1. Estudio del color del MTA a nivel superficial	199
D.2.2.2. Estudio de las texturas del MTA en profundidad.....	200
DISCUSIÓN GENERAL.....	205
CONCLUSIONES	213
BIBLIOGRAFÍA.....	215
ANEXOS	229
ANEXO 1. IMÁGENES DE PARTÍCULAS DE MTA.....	229
ANEXO 2. PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN QUE SE MANDÓ AL COMITÉ DE ENSAYOS CLÍNICOS.....	232

ANEXO 3. APROBACIÓN DEL COMITÉ DE ENSAYOS CLÍNICOS	234
ANEXO 4. CONSENTIMIENTO INFORMADO	235

RESUMEN

El agregado trióxido mineral (MTA) es un material que se ha consolidado para el tratamiento de numerosas patologías con necesidad de sellado endo-periodontal.

Los MTA que llevan más tiempo comercializados son los de Dentsply y Ángelus. Existen diferencias entre los MTA de ambas empresas, destacando las referidas a composición y tamaño y forma de sus partículas de polvo.

La extensión de su uso se ha basado en sus resultados de biocompatibilidad y capacidad de sellado. Sin embargo, es de difícil manejo y puede oscurecerse una vez fraguado.

Son escasos los estudios que usan ultrasonidos en la adaptación del MTA-dentina, aunque podría ser un método sencillo para mejorar el sellado. El efecto que los ultrasonidos tendrían sobre el color del MTA no se ha estudiado todavía.

OBJETIVOS

Los objetivos planteados en esta tesis fueron:

1. Comparar cuantitativamente la composición elemental de MTA Ángelus® blanco y gris y Coloured ProRoot® MTA en muestras fraguadas y de polvo.
2. Comparar el tamaño, forma y distribución de las partículas de los 3 MTA en el polvo original.
3. Determinar el efecto de los ultrasonidos en el sellado tridimensional en superficie y profundidad de los 3 MTA a las paredes dentinarias.

4. Comprobar si los ultrasonidos afectan al color del MTA en superficie y en profundidad.

MATERIAL Y MÉTODO

Los cementos fueron: MTA Ángelus® blanco, MTA Ángelus® gris y Coloured ProRoot® MTA.

La composición elemental se estudió con espectrometría de dispersión de energía de rayos X (EDX) unida a un microscopio electrónico de barrido (SEM) y espectroscopía fotoeléctrica de rayos X (XPS).

La distribución, tamaño y forma de las partículas de los MTA se hizo con imágenes de SEM y procesadas morfológicamente con el programa de imagen FIJI.

El efecto de los ultrasonidos en el sellado tridimensional se efectuó con imágenes de microscopía óptica y estudiadas con el programa FIJI.

En el análisis del cambio de color de los MTA se usó el programa FIJI para calcular la reflectividad del cemento en las muestras.

RESULTADOS

Los 3 MTA no presentaron diferencias significativas en la fracción másica de los bioelementos empleando EDX y XPS, ni en muestras fraguadas ni en las de polvo, más allá de las que hay entre lotes del mismo cemento.

El SEM para el estudio de la distribución de tamaños de las partículas mostró que para los menores tamaños no había diferencias entre los MTA. En las partículas más grandes, Coloured ProRoot® MTA tuvo menor número de éstas en comparación con MTA Ángelus® blanco y gris. En la forma de las

partículas, no hubo diferencia entre los 3 tipos de MTA ($p>0,05$), siendo la circularidad media 0,8.

La adaptación MTA-dentina, entendida como la ausencia de separaciones entre cemento y dentina, no mejoró usando ultrasonidos ni en superficie ni en la profundidad de la cavidad. En MTA Ángelus® gris, la longitud media de los gaps en profundidad, se redujo significativamente ($p<0,05$) con ultrasonidos.

Los ultrasonidos ocasionaron que los colores originales permanecieran una vez fraguados, siendo significativo ($p<0,05$) en MTA Ángelus® blanco. En profundidad, la textura más frecuente fue “2 colores” si no se aplicaron ultrasonidos y “1 color” cuando se aplicaron.

CONCLUSIONES

1. El análisis químico elemental de los 3 MTA no revela diferencias significativas entre ellos.
2. La distribución de tamaños de partículas de pequeño tamaño es similar en los 3 MTA. Coloured ProRoot® MTA presenta menos partículas grandes que MTA Ángelus® blanco y MTA Ángelus® gris. La circularidad media de las partículas de los 3 MTA fue en torno a 0,8.
3. Los ultrasonidos no mejoran la adaptación MTA-dentina ni en superficie ni en profundidad. En profundidad, la longitud media de los gaps mejora usando ultrasonidos significativamente ($p<0,05$) en MTA Ángelus® gris.
4. Los ultrasonidos ayudan a mantener los colores originales de los MTA en superficie y profundidad, siendo notable la mejoría de MTA Ángelus® blanco respecto Coloured ProRoot® MTA.

ABSTRACT

Mineral trioxide aggregate (MTA) is a material whose use has been consolidated in the treatment of numerous pathologies requiring endo-periodontal sealing.

The MTAs that have been on the market for the longest period of time are produced by Dentsply and Angelus. Both companies' MTAs differ, particularly in terms of their composition and the size and shape of their powder particles.

Their degree of use has been based on their biocompatibility results and sealing capacity. However, this material is difficult to manipulate and may darken once it sets.

Few studies using ultrasound in the MTA-dentin adaptation have been conducted, though it could prove a simple method for improving the sealing process. The effect of ultrasound on MTA color has not yet been studied.

OBJECTIVES

The objectives proposed for this thesis were:

1. To quantitatively compare the elemental composition of white and gray MTA-Angelus® and Colored ProRoot® MTA in set and powder samples.
2. To compare particle size, shape and distribution of the 3 MTAs in the original powder.
3. To determine the effect of ultrasound on the surface and deep three-dimensional sealing of the 3 MTAs to the dentin walls.

4. To determine if ultrasound affects surface and deep MTA color.

MATERIALS AND METHOD

The cements were: white MTA-Angelus®, gray MTA-Angelus® and Colored ProRoot® MTA.

The elemental composition was studied using energy-dispersive X-ray (EDX) spectroscopy linked to a scanning electron microscope (SEM) and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS).

The distribution, size and shape of the MTA particles were analyzed with SEM images and were processed morphologically using the FIJI imaging program.

The effect of ultrasound on the three-dimensional sealing was analyzed with optical microscopy images and studied using the FIJI program.

The FIJI program was used in the analysis of MTA color change to calculate the reflectivity of the cement in the samples.

RESULTS

No significant differences were detected in the mass fraction of the bioelements using EDX and XPS among the 3 MTAs or in the set and powder samples, beyond those existing between batches of the same cement.

The SEM for the study of particle size distribution showed that for the smaller sizes, there were no differences between the MTAs. In terms of the larger particles, Colored ProRoot® MTA had fewer large particles than white or gray MTA-Angelus®. Regarding particle shape, there was no difference

between the 3 types of MTA ($p>0.05$); all presented a mean circularity of 0.8.

MTA-dentin adaptation, understood as the absence of gaps between the cement and the dentin, did not improve on the surface or deep in the cavity using ultrasound. With gray MTA-Angelus®, the mean length of the deep gaps was significantly reduced ($p<0.05$) with ultrasound.

Ultrasound enabled the original colors to persist once they were set, with significant findings ($p<0.05$) with white MTA-Angelus®. At depth, the most frequent texture was “2 colors” when ultrasound was not used and “1 color” with ultrasound.

CONCLUSIONS

1. The elemental chemical analysis of the 3 MTAs revealed no significant differences between them.
2. The size distribution for small particles is similar in all three MTAs. Colored ProRoot® MTA presented fewer large particles than white MTA-Angelus® and gray MTA-Angelus®. The mean circularity of the particles stood near 0.8 for all 3 MTAs.
3. Ultrasound did not improve surface or deep MTA-dentin adaptation. At depth, the mean length of the gaps improved significantly ($p<0.05$) with ultrasound and gray MTA-Angelus®.
4. Ultrasound helps maintain the original surface and deep MTA color, with noteworthy improvement with white MTA-Angelus® as compared to Colored ProRoot® MTA.

ABREVIATURAS

<i>AB</i>	MTA Ángelus® blanco
<i>AG</i>	MTA Ángelus® gris
<i>BioPure MTAD</i>	Doxiciclina, ácido cítrico y polisorbato
<i>CVI</i>	Cemento de vidrio ionómero
<i>DE</i>	Desviación estándar
<i>EDTA</i>	Etilendiaminotetracético
<i>EDX</i>	Espectrometría de dispersión de rayos X Energy dispersive Spectroscopy
<i>ESEM</i>	Microscopio Electrónico Ambiental de Barrido Environmental scanning electron microscope
<i>FIJI</i>	Fiji is just ImageJ
<i>HPF</i>	High Power Field
<i>IRM</i>	Intermediate Restorative Material®
<i>MTA</i>	Agregado Trióxido Mineral
<i>P</i>	Coloured ProRoot® MTA
<i>SEM</i>	Microscopía Electrónica de Barrido Scanning electron microscope
<i>UCM</i>	Universidad Complutense de Madrid
<i>UNED</i>	Universidad Nacional de Educación a Distancia
<i>XPS</i>	Espectroscopía fotoeléctrica de rayos X X-ray photoelectron spectroscopy

JUSTIFICACIÓN

El agregado trióxido mineral (MTA) es un material que se ha ido consolidando con los años para el tratamiento de numerosas patologías con implicación de sellado endo-periodontal.

Los MTA que llevan más tiempo comercializados son los de las casas comerciales Dentsply y Ángelus [1, 2]. Existen pequeñas diferencias entre los MTA de ambas empresas, sobre todo, en relación a la composición y el tamaño y forma de las partículas que los integran [3, 4]. Estas variaciones traen consigo que los MTA de cada casa comercial pueden presentar diferentes propiedades físico-químicas finales.

La extensión del uso de los MTA se ha basado, principalmente, en los excelentes resultados obtenidos en estudios sobre su biocompatibilidad y capacidad de sellado [5-8]. Sin embargo, este mismo hecho, ha servido, también, para poner de manifiesto sus limitaciones y necesidades de mejora. Los problemas actuales que se encuentran en el MTA son las dificultades en su manejo para conseguir el apreciado sellado endo-periodontal y que, en numerosas ocasiones, se oscurece una vez fraguado [9-11].

Entendemos que un menor tamaño de partícula, además de mejorar la adaptación del material a la superficie dentinaria, provocará una mayor superficie de contacto con el agua, imprescindible para el fraguado. Y, como consecuencia, posiblemente, influirá en el comportamiento físico del material.

Con respecto al manejo, se han barajado diferentes opciones para tratar de mejorarlo y facilitarlo, que a su vez repercutirían directamente en la calidad de sellado del material [12]. Pero, el hecho de que el MTA cambie de color y se oscurezca una vez fraguado, es una desventaja enorme sobre todo en aquellos tratamientos con alto componente estético [13, 14]. En la actualidad, se desconoce la causa que genera dicha alteración en la

coloración, pero podría llegar a condicionar el uso del material en sectores anteriores.

Son escasos los estudios en los que se emplean los ultrasonidos con el fin de mejorar la adaptación y, como consecuencia, su capacidad de sellado [15-17]. Pudiera resultar un método relativamente sencillo de mejorar la capacidad de sellado del MTA. El efecto que los ultrasonidos tendrían en el color del MTA fraguado no se ha estudiado todavía, por lo que sería conveniente analizarlo para comprobar si su uso modifica positiva o negativamente este aspecto.

Consideramos necesario ampliar los conocimientos sobre las diferencias entre los distintos MTA de las casas comerciales en relación a su composición, tamaño, forma y distribución de sus partículas, así como el efecto de los ultrasonidos con respecto a la adaptación a la dentina y al cambio de color del MTA.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

Las hipótesis de trabajo que se plantean son:

1. Suponer que no hay diferencia entre MTA Ángelus® blanco y MTA Ángelus® gris y Coloured ProRoot® MTA en referencia a la composición, tamaño, forma y distribución de las partículas que forman su polvo.
2. Considerar que no afecta el uso de ultrasonidos en la condensación de MTA Ángelus® blanco, MTA Ángelus® gris y Coloured ProRoot® MTA a la adaptación a las paredes dentinarias y al color final de los cementos.

OBJETIVOS

A partir de las hipótesis de trabajo, los objetivos que se han propuesto son:

1. Comparar cuantitativamente la composición elemental de MTA Ángelus® blanco, MTA Ángelus® gris y Coloured ProRoot® MTA para muestras fraguadas y en polvo.
2. Comparar el tamaño, forma y distribución de las partículas de MTA Ángelus® blanco, MTA Ángelus® gris y Coloured MTA ProRoot® .
3. Determinar el efecto de los ultrasonidos en la adaptación en superficie y profundidad a las paredes dentinarias de MTA Ángelus® blanco, MTA Ángelus® gris y Coloured ProRoot® MTA.
4. Comprobar si el cambio de color en superficie y profundidad en MTA Ángelus® blanco, MTA Ángelus® gris y Coloured ProRoot® MTA se ve afectado por el uso de ultrasonidos en la condensación de los cementos.

INTRODUCCIÓN

El MTA es un material que se ha consolidado paulatinamente con los años para el tratamiento de numerosas patologías con implicación de sellado endo-periodontal. Se ha empleado en tapones apicales, perforaciones, reabsorciones radiculares, cirugía periapical y obturación coronaria [1, 4, 18-22]. Aun uno habiendo compromiso, endo-periodontal, también está indicado en pulpotomías y recubrimientos pulpaes directos [23-25].

Existen diferentes productos comerciales de MTA, aunque los que llevan más tiempo comercializados son Dentsply y Ángelus. Existen pequeñas diferencias entre ellos, siendo las más importantes la composición y el tamaño y forma de las partículas que los integran, lo que podría ocasionar diferentes propiedades físico-químicas [3, 4, 26-29].

La extensión del su uso de los MTA se ha basado, fundamentalmente, en los excelentes resultados obtenidos en su estudios en relación a su biocompatibilidad y capacidad de sellado [5-8]. Aunque también se han puesto de manifiesto las limitaciones y necesidades de mejora.

Los principales problemas de uso son su difícil manejo y que, en numerosas ocasiones, se oscurezca una vez fraguado. La bibliografía consultada, baraja diferentes opciones para mejorar y facilitar la manipulación, a costa, posiblemente, de empeorar la calidad de sellado del material. Entre ellos se encuentra el estudio de Fridland [30] que propuso aumentar la proporción de agua con respecto al polvo en el momento de la mezcla. Sin embargo, el MTA endurecido empleando mayor proporción de agua poseía mayor concentración de hidróxido de calcio, que daba lugar a una material más soluble. Lee [31] sugirió preparar cavidades en bloque de plástico y rellenarlas con MTA para asó obtener bloques preformados que llevar inmediatamente a la cavidad preparada en el diente. Esta técnica presentó filtración entre las paredes dentinarias en el bloque de MTA. Por su parte, Andelin [32] propuso otra solución para facilitar la aplicación de MTA de cara

a sellar la porción apical de conductos con apicectomía, especialmente en casos en los que el acceso quirúrgico sea complejo. La solución que se indica supone que, en lugar de preparar la cavidad y colocar el material por vía retrógrada, cortar la raíz cuyo conducto ha sido previamente obturado por completo por vía ortógrada mediante MTA. Esta solución ha mostrado resultados no siempre satisfactorios. Autores como, Aminoshariae [12] y Lawley [16] plantearon la posibilidad de emplear ultrasonidos para tratar de adaptar mejor el MTA a las paredes dentinarias. De esta manera, se disgregarían las partículas de MTA y se conseguiría mejor adaptación. Los resultados de sus estudios no fueron concluyentes.

El hecho de que se oscurezca una vez fraguado y se desconozca la causa, es una gran desventaja en los tratamientos con alto componente estético, hasta el punto de que podría llegar a condicionar el uso de este material [13, 14, 33-50].

Existen estudios, aunque escasos, en los que se emplean los ultrasonidos para tratar de mejorar la adaptación y, como consecuencia, su capacidad de sellado [4, 15, 51]. Pudiera resultar un método sencillo de mejorar el sellado. Sin embargo, no se han encontrado estudios que analicen el efecto que los ultrasonidos puedan tener sobre el color del MTA fraguado.

Por todo ello, este trabajo pretende ampliar los conocimientos sobre las diferencias entre los principales MTA del mercado en relación a su composición, tamaño, forma y distribución de sus partículas, así como el efecto de los ultrasonidos sobre la adaptación a la dentina y sobre el cambio de color del MTA. Concretamente, se ha realizado un estudio para comparar el porcentaje en peso de los elementos principales que forman los diferentes MTA; la determinación de la morfología de las partículas que lo conforman (tamaño y forma). También, se ha estudiado el efecto de los ultrasonidos en la adaptación del MTA (en superficie y profundidad) a las paredes dentinarias así como sobre el cambio de color en la condensación de los elementos.

Para llevar a cabo este trabajo se ha hecho uso de diferentes técnicas físico-químicas y de herramientas, como microscopía óptica e imagen digital, que suelen estar fuera del ámbito corriente de la odontología, aunque son de uso común en los actuales trabajos multidisciplinarios en los que se ve inmersa la ciencia moderna. Posteriormente se describirán estas herramientas.

1. CARACTERIZACIÓN DE LOS MATERIALES ENDODÓNTICOS MEDIANTE HERRAMIENTAS FÍSICAS

1.1. Nuevas bases de los materiales endodónticos

La filosofía de trabajo en el campo de la Endodoncia actual busca ser cada vez más conservador con las piezas dentales. Esto ha podido llevarse a cabo gracias a un mayor conocimiento de las causas y consecuencias de las lesiones endo-periodontales, a la mejora de las técnicas terapéuticas a disposición y, sobre todo, a la introducción de diversos materiales dentales adaptados a los nuevos tratamientos.

1.2. Material ideal en endodoncia

El objetivo del material ideal para el tratamiento endodóntico es sellar tridimensionalmente todas las posibles vías de comunicación entre el sistema de conductos radiculares y el exterior del diente con una barrera física estable, impermeable y no reabsorbible para que se puedan regenerar los tejidos perirradiculares enfermos, resistir a las fuerzas de la masticación y evitar la filtración bacteriana [7, 24, 52-54]. Al ser un material que va a quedar en contacto con el endo y periodonto (a excepción de pulpotomías y recubrimientos pulpares directos), no deben afectarse sus propiedades físico-químicas en presencia de humedad y ha de tener capacidad antibacteriana [1, 7].

Para la consecución de sus objetivos, es fundamental que el material sea biocompatible con los tejidos perirradiculares [7, 24, 52, 53]. Igualmente, no debe teñir ni los dientes ni el periodonto [1].

Con respecto a su manejo, ha de ser fácil de situar en el lugar indicado con el fin de que quede bien adaptado a las paredes sin que haya espacios

(gaps) entre el material y la dentina [52, 53]. Asimismo, debería poder ser retirado con facilidad [33, 55].

Para el control radiográfico y su distinción de los tejidos adyacentes, el material debe ser radiopaco [7].

1.3. Caracterización de los materiales

La caracterización supone el estudio de las propiedades físicas, químicas y/o estructurales, de los materiales [31, 56-58]. Una vez conocidas, podrá describirse la naturaleza del material, así como sus posibles aplicaciones [31, 57, 58].

A continuación, en la Tabla 1, se describe el proceso de caracterización de materiales que se profundizará seguidamente:

Composición	Tamaño y forma de la partículas	Adaptación a dentina	Estudio del color
Espectrometría dispersión de energía de rayos X	Analizador de imágenes de partículas en circulación	Filtración de bacterias, tintes, fluidos	Espectrofotometría
Espectroscopía fotoeléctrica de rayos X	Difracción láser	Microscopía óptica y SEM	Imagen digital
Difracción de rayos X	SEM		

Tabla 1. Proceso de caracterización de los materiales.

1.3.1. Composición

Los medios para poder conocer la composición fundamental de los materiales más empleados en la actualidad son: espectrometría de dispersión de rayos X (EDX), espectroscopía fotoeléctrica de rayos X (XPS) y difracción de rayos X (DRX) [57].

EDX es una técnica analítica que permite la determinación cualitativa y cuantitativa de la composición atómica superficial de una muestra [57]. Sus principales ventajas residen en que puede emplearse para el análisis de cualquier tipo de material e, incluso, detectar más de un elemento a la vez y que el vacío que se emplea en esta prueba (usualmente acoplado a un microscopio electrónico de barrido) no altera la naturaleza química de la muestra [57].

La capacidad de caracterización del EDX se basa en el principio fundamental de que cada elemento tiene una estructura atómica única (espectro de energías electrónicas único). Debido a ello, un elemento puede ser identificado a partir de su espectro de rayos X emitidos durante las transiciones electrónicas [59, 60].

En el EDX, como se indica en la Figura 1, la muestra se introduce en el interior del SEM y se la bombardea mediante electrones. La muestra emitirá rayos X característicos, se serán medidos mediante un espectroscopio de rayos X. Y, dado que cada elemento desprende fotones de rayos X de energías características, se proporcionará un espectro en el que aparecerá información analítica cualitativa (por los picos de emisión del espectro) y cuantitativa (por la altura de dichos picos) sobre la composición superficial de la muestra [59].

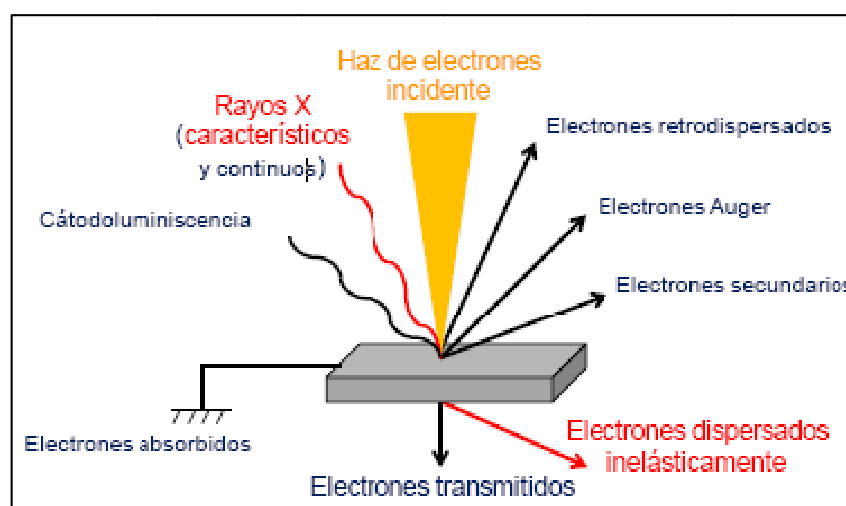


Figura 1. Formación del espectro a partir de EDX+SEM [59].

Sin embargo, el EDX presenta una serie de limitaciones [57]:

- Habrá ocasiones en las que haya que metalizar la muestra para evitar la acumulación de carga eléctrica en su superficie.
- La precisión de la técnica podría verse afectada por la naturaleza de la muestra o por la existencia de artefactos debido al procesamiento de la señal.
- Sólo permite el estudio de muestras compatibles con alto vacío (10^{-6} mbar).
- No detecta o es muy impreciso en la detección de elementos ligeros.
- La señal está afectada de un valor continuo de radiación de frenado (Bremsstrahlung) que dificulta la medida de las alturas de los picos de emisión.
- Aporta información sólo de los primeros nanómetros de la muestra (aunque esto depende mucho de la composición y de la energía del haz de electrones).

XPS es una técnica para el análisis cualitativo y cuantitativo de los elementos presentes en una muestra sólida, así como información sobre el entorno molecular de la misma (estados de oxidación y orbitales moleculares) [61].

Este método es capaz de detectar elementos que se encuentren en concentraciones mayores a 0,1% y el error de la determinación de la composición semicuantitativa será inferior o del orden del 10% [61]. Puede emplearse para un gran número de muestras y para poder proceder al estudio

de la composición, el polvo ha de presentarse prensado o empastillado [61]. Una vez estudiadas las muestras, éstas no se destruyen [61].

La capacidad de caracterización del XPS se basa en que un fotón de rayos X entre en contacto con un átomo siendo capaz de transferir toda la energía del propio fotón al electrón del orbital atómico. Como consecuencia se emitirá el electrón del átomo, produciéndose el efecto de fotoemisión [61]. Dicho proceso puede observarse en la Figura 2.

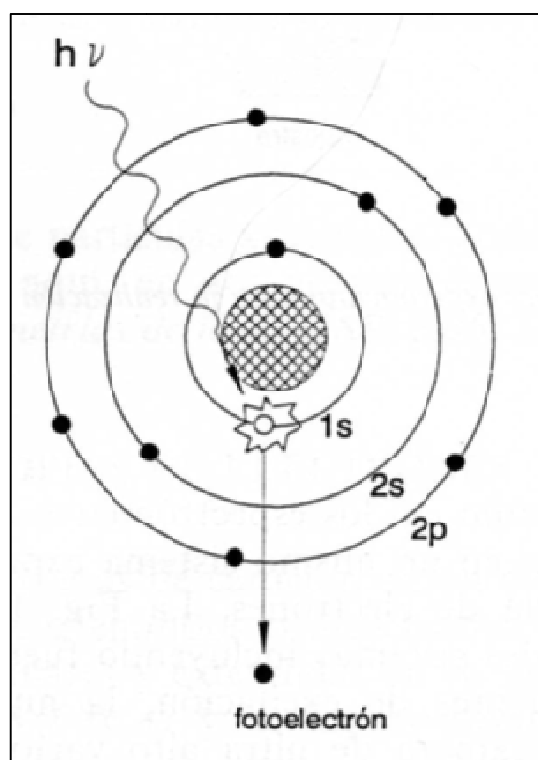


Figura 2. Generación del proceso de fotoemisión mediante XPS [61].

Para realizar el análisis de un espectro de XPS se requiere conocer las características del propio espectro antes, para, posteriormente realizar un barrido amplio, cubriendo un rango de unos 100eV. Para estudiar zonas con más detalle, se emplearán rangos de unos 20eV. En el espectro final quedarán representados en el eje de abscisas los valores de las energías de enlace y en el de ordenadas las intensidades medidas [61].

A pesar de su utilidad, presenta una serie de limitaciones. Sólo permite el estudio de muestras sólidas que sean compatibles con vacío y no es capaz de detectar ni helio ni hidrógeno [59]. Además, en los espectros aparece ruido de fondo tras cada fenómeno de fotoemisión [59, 61]. Esto se debe a fotoelectrones que han perdido energía debido a colisiones inelásticas en el sólido, pero que todavía tienen energía suficiente para escapar [59, 61]. Por último, el XPS sólo aportará información de los 10nm de profundidad bajo la superficie de la muestra [61].

Una vez descritos los diferentes métodos EDX y XPS cabe destacar que, a pesar de que ambos son capaces de aportar información sobre la composición de la materia, en el primero son los electrones quienes interaccionan inelásticamente con la materia devolviendo rayos X, mientras que en XPS son los rayos X quienes interaccionan por medio del efecto fotoeléctrico con la materia y serán los electrones quienes formen los espectros a interpretar.

Por último, **DRX** proporciona información cualitativa y cuantitativa detallada de la estructura tridimensional en estado sólido de los compuestos orgánicos, inorgánicos y órgano-metálicos [21, 58, 62, 63]. Permite, rápidamente y sin destruir las muestras, identificar los compuestos químicos cristalinos que constituyen un material, determinar el tamaño de los cristales y el análisis cuantitativo de las fases cristalinas [58, 62-64].

En la Figura 3, se muestran cómo al entrar en contacto el haz de rayos X con un cristal, el primero se difracta en varias direcciones debido a la simetría y agrupación de los átomos y da lugar a un patrón de intensidades que puede interpretarse según la ubicación de los átomos de los cristales [63].

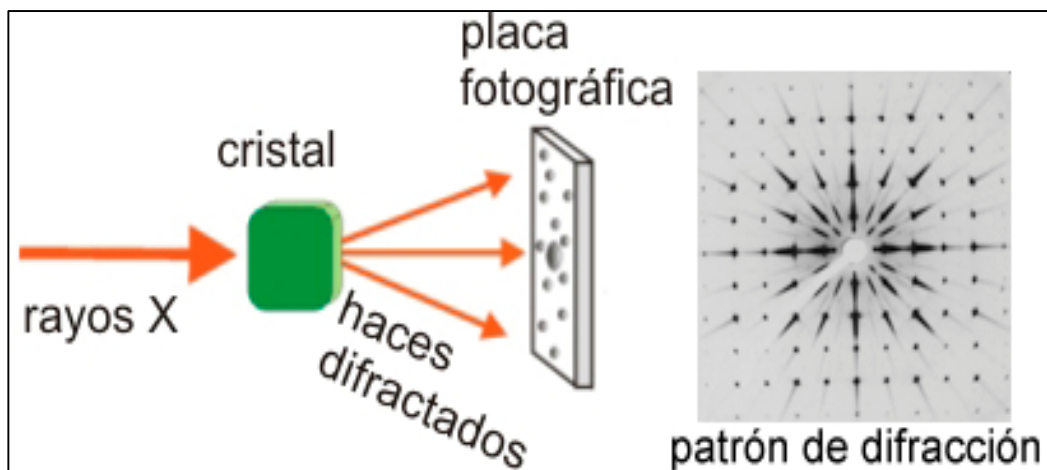


Figura 3. Formación del patrón de DRX [65].

1.3.2. Tamaño y forma de las partículas que integran el material

Para determinar el tamaño y la forma de los materiales existen varios métodos: analizadores de imágenes de partículas en circulación, láser de difracción y SEM [66].

Los **analizadores de imágenes de partículas en circulación**, como, por ejemplo, el FPIA-3000 (Sysmex FPIA, Kobe, Japón), que puede verse en la Figura 4, estudian la forma y tamaño de emulsiones y suspensiones de partículas de tamaño comprendidos entre 0,8-300 μm y aportan información cuantitativa de su forma, pudiéndose expresar como parámetros morfológicos de las partículas [67-70].

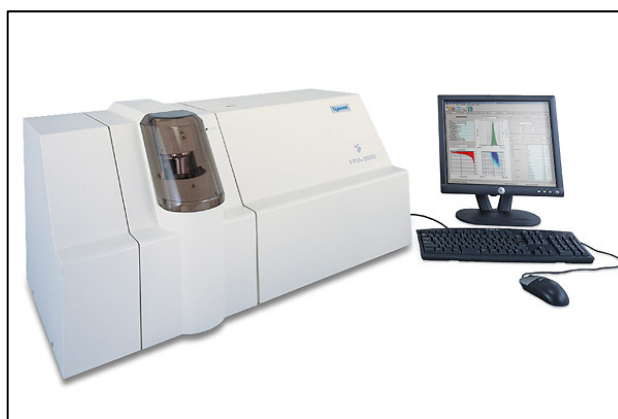


Figura 4. FPIA-3000 [71].

Como puede observarse en la Figura 5, el tamaño de cada partícula se calcula a partir del diámetro más largo y su perímetro, mientras que la redondez se calcula como el cociente entre la circunferencia del círculo mayor que engloba esa partícula y el perímetro de la misma [67, 69, 72]. Los valores de circularidad van desde cero (línea) a 1 (círculo perfecto) [67, 69, 72].

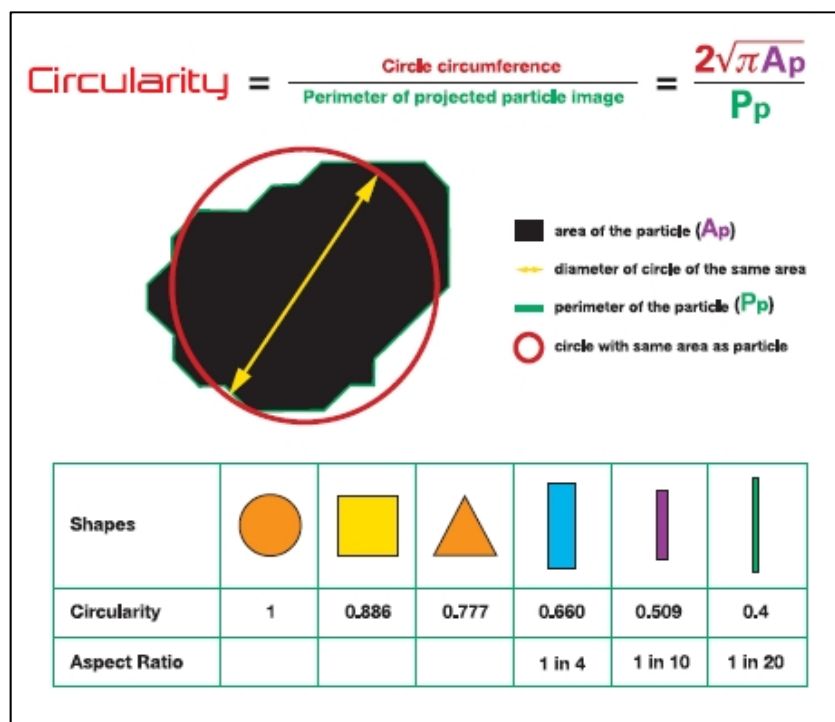


Figura 5. Circularidad aportada por FPIA-3000 [71].

Las ventajas que ofrece un analizador de imágenes de partículas en circulación son [71]:

- Imagen final de gran calidad.
- Análisis de las partículas totalmente automatizado en pocos minutos.
- Permite enfoque nítido incluso de las partículas más pequeñas.
- Proporciona la opción de insonicación las partículas con ultrasonidos para poder dispersarlas bien.

El **láser de difracción** es un método capaz de proporcionar resultados con rapidez, precisión y reproducibilidad mediante el cual se mide el tamaño de las partículas mientras éstas pasan a través de un haz láser que se difracta en ellas [73, 74].

Al hacer pasar un rayo láser monocromático expandido a través de una muestra pulverizada, en seco o en suspensión en un líquido no reactivo, la luz se difracta y se produce una figura de difracción de simetría radial en el plano focal de la lente. Si todas las partículas iluminadas son de tamaño único, el rayo láser formará una figura de difracción nítida. La intensidad luminosa de los anillos claros es directamente proporcional al número de partículas vistas con el haz luminoso y los radios de los anillos son inversamente proporcionales al diámetro de las partículas. Cuando las partículas tienen tamaños diferentes, la figura de difracción (Figura 6) obtenida se basa en una superposición de imágenes cada una de las cuales corresponde a un diámetro diferente de partícula y cuya intensidad disminuye con la distancia al centro.

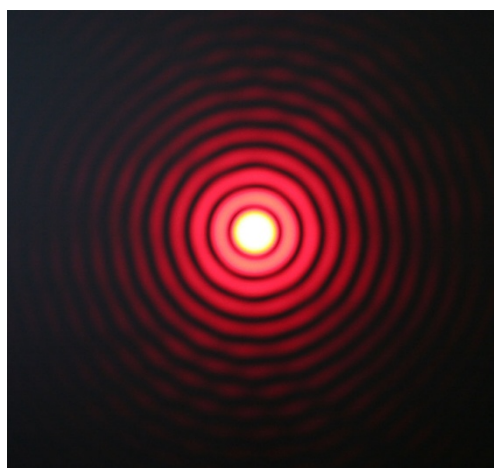


Figura 6. Figura de difracción [75].

A partir de esta figura de difracción, midiendo sobre la imagen observada, así como haciendo uso de algunas aproximaciones matemáticas sobre la interacción del haz y las partículas, se obtiene la distribución granulométrica de una muestra [73].

El rango de partículas a observar dependerá del aparato empleado, pero oscila, normalmente, entre 0,05-550 μm [74].

El funcionamiento del **SEM** se muestra en la Figura 7. Se basa en la utilización de un haz fino de electrones que se hace impactar contra una muestra llevando a cabo un barrido sobre la misma [76]. Como consecuencia de esta interacción emergen de la muestra varios tipos de señales electrónicas (retrodispersadas), que pueden ser recogidas con el fin de obtener imágenes [76].

El tipo de señal necesaria para la formación de una imagen son los electrones secundarios, que son captados por un detector, se procesan sus señales y se construye una imagen a partir de ellas [76].

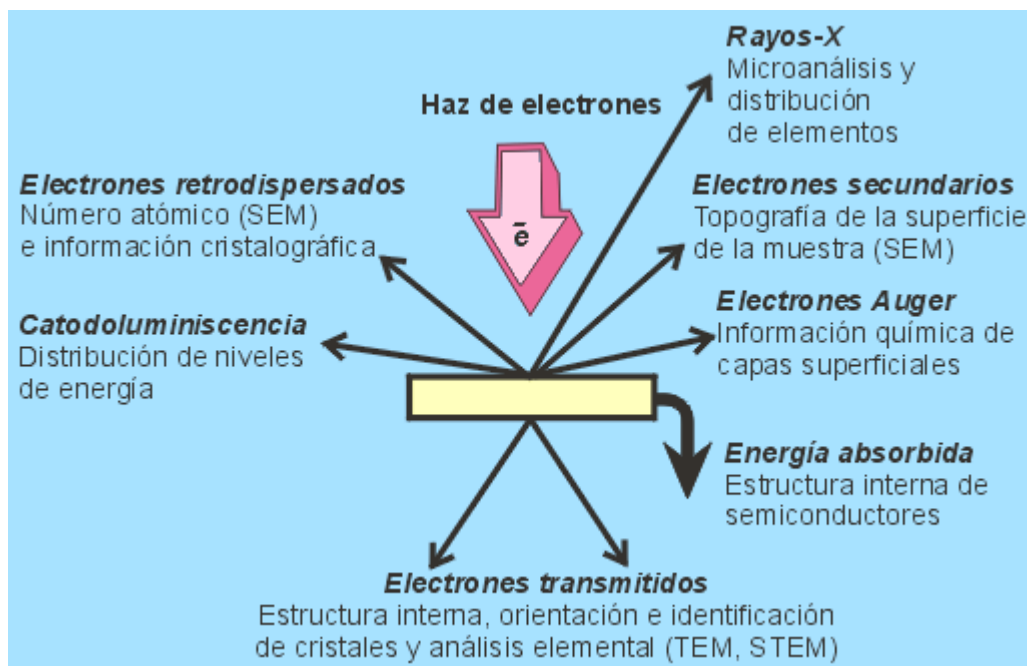


Figura 7. Mecanismo de funcionamiento del SEM [77].

Lo más importante de una imagen obtenida por el SEM es el contraste, que se define como el brillo relativo entre los distintos puntos que forman la imagen y depende directamente del número de electrones secundarios colectados por el detector debidos a las propiedades eléctricas y al relieve de

la muestra [76]. Si al detector llegan muchos electrones secundarios, se obtendrá un punto brillante; mientras que si llegan pocos, se conseguirá un punto oscuro [76]. De esta manera, lo que se logra es una imagen final en escala de grises que representa, principalmente, la topografía de la muestra [76].

Dado que el número de electrones que alcanza el detector es la clave para obtener una imagen, van a depender del ángulo de incidencia del haz con respecto a la superficie de exploración y de la orientación relativa entre el detector y la zona de exploración [76]. Se necesita, por tanto, que el haz de electrones incida con cierto ángulo, porque así el haz recorre más camino, se producen más electrones secundarios y, como consecuencia, es mejor el contraste y calidad de la imagen [76].

1.3.3. Comportamiento del material: adaptación a dentina

La eficacia de sellado entre los diversos materiales de Endodoncia y la dentina se han testado utilizando diferentes métodos: filtración (bacteriana, tintes y fluidos) y microscopía.

Los estudios de **filtración bacteriana** buscan simular el efecto de las bacterias o subproductos del metabolismo bacteriano, como consecuencia de filtración coronal, espacios en conductos no instrumentados, pérdida de la restauración oclusal y/o lesiones perirradiculares [8, 78].

En este tipo de experimentos hay que tener muy en cuenta la posible contaminación de las muestras [79].

El estudio de **filtración con tintes** es el método más utilizado para evaluar la adaptación entre materiales de sellado y dentina, pues son tests muy fáciles de llevar a cabo y no requieren materiales sofisticados [1, 5, 80-85].

Los tintes más empleados para el estudio del sellado marginal son: tinta china, azul de metileno y rhodamina B [83, 86].

La técnica consiste en mojar el ápice del diente en un tinte, el cual penetrará a través de cualquier gap o espacio que exista entre las paredes dentinaria y el material de relleno por capilaridad [82]. Posteriormente, la raíz se corta longitudinal o transversalmente en dos fragmentos y se procede a la medición semicuantitativa sobre un plano del colorante penetrado en el conducto radicular [80, 82-84].

Existen varios sistemas para medir el colorante, como la diafanización o la disolución del diente en ácido buscando que se libere todo el tinte de la interfaz y estudiar la densidad óptica de la solución empleando un espectrofotómetro [5, 82].

A pesar de ser la técnica más extendida, presenta una serie de limitaciones en cuanto al método, a los propios tintes y a los resultados de los estudios.

En relación al método, existen una serie de condicionantes que generan mayor o menos filtración de tinte [83]:

- Tener que cortar los dientes para poder estudiar la filtración hace que quizás con el propio corte se elimine parte del colorante.
- Si antes de empezar el estudio, los dientes han estado sumergidos en hipoclorito de sodio, cabe la posibilidad de que haya interacción entre el desinfectante y el tinte, alterándose los resultados de filtración.
- Cabe la posibilidad de que el tinte se detenga debido a la presencia de burbujas de aire en el interior del conducto. Para minimizar este fenómeno se han incluido en la metodología el uso de sistemas de presión o máquinas centrifugadoras.

- Las muestras sólo pueden estudiarse una vez, por lo que es imposible realizar estudios reproducibles y comparables [87].

Con respecto a los tintes, se ha observado que la filtración depende de:

- Tinte empleado. El azul de metileno es el colorante con mayor capacidad de penetración, debido al pequeño tamaño de sus partículas [83, 88].
- Concentración de tinte empleado [83].
- pH del tinte. El colorante de azul de metileno es más ácido que la tinta china, por lo que posee mayor capacidad de penetración [86].
- Hay tintes capaces de teñir algunos materiales dentales, haciendo imposible el estudio de la filtración, al no distinguirse el tinte del propio material [85, 86].

Finalmente, en referencia a los resultados que obtenidos en los estudios de filtración con tintes, habrá que considerar lo siguiente:

- El tamaño de las partículas de la mayoría de los tintes es más pequeño que el de las bacterias; esto ocasiona que los tintes penetren más allá de donde las bacterias alcanzarían [1, 5, 8, 79, 81, 83, 88]. Por tanto, los estudios realizados con tintes podrían utilizarse para indicar la extensión del paso de metabolitos, toxinas y productos de degradación de las propias bacterias, pero no de las bacterias en sí [1, 80, 83, 89].
- A excepción de la diafanización, en general los estudios con tintes aportan información sólo de la filtración en un plano, lo que hace imposible conocer la penetración total del tinte [5, 8, 20, 84, 85, 90].
- Los resultados obtenidos por los diferentes estudios realizados con tintes no son siempre comparables, tal vez debido a la diversidad de

métodos y a los diferentes colorantes empleados [83]. De manera genérica diremos que de cada estudio es necesario conocer el pH del colorante empleado, si la inmersión en el tinte ha sido inmediata o no, el tiempo de permanencia del diente en el tinte y el uso de agentes quelantes previos a la tinción [20, 83, 90].

- A la hora de tratar de extrapolar los resultados de los estudios a la clínica, resulta imposible pues ningún estudio con tintes tiene en cuenta la interacción con los tejidos perirradiculares [5].

Los estudios de **filtración de fluidos** aportan información cuantitativa y cualitativa de la capacidad de sellado de los materiales, pues permite observar el movimiento de las burbujas de aire entre el material y el diente a través de una micropipeta y calcular el porcentaje de muestras en las cuales detecta filtración de fluidos [6, 11, 85, 91, 92].

Este método presenta una serie de ventajas con respecto al método de filtración con tintes:

- No se destruyen las muestras, cabiendo la posibilidad de evaluar los gaps en diferentes intervalos de tiempo e incluso usar otros métodos de análisis de sellado utilizando la misma muestra [6, 85, 87, 91].
- Evita los problemas causados por el atrapamiento de aire o fluidos [89]. Cuanta más presión se utilice, menos errores generados por burbujas de aire habrá [84].

Las desventajas del modelo de transporte de fluidos son [87]:

- Permite calcular el diámetro de los espacios existentes, pero no la longitud de los gaps [87].

- El método lleva mucho tiempo, es una técnica muy sensible, y, si no se automatiza, la precisión de las medidas depende de la precisión del ojo humano [87].
- Se ve directamente condicionado por el grosor del material a estudiar y el pH ambiental [55].

Como alternativa a los métodos de filtración se encuentran los **microscopios**. Éstos son instrumentos para poder observar objetos o estructuras pequeñas y que permitirían el estudio de la adaptación entre el material de obturación y la dentina [93]. Para ello, se cuenta en la actualidad con dos posibles tipos: microscopio óptico y microscopio electrónico de barrido (SEM).

Las principales diferencias entre los microscopios ópticos y SEM son el mayor poder de resolución y mayor profundidad de campo por parte de SEM [76]. El poder de resolución se define como la distancia más pequeña que ha de existir entre dos puntos para que puedan ser discriminados como dos entidades distintas, mientras que la profundidad de campo es la diferencia de altura de dos planos que presentan la misma calidad de foco, es decir, el rango de posiciones del objeto para las cuales el ojo no detecta ningún cambio en la definición de la imagen [76].

Los electrones, en el SEM, poseen longitudes de onda mucho menores que la de los fotones usados en microscopía óptica [76]. Esto supone que se puede hacer pasar a los electrones por aperturas de diámetro mucho menor que los fotones, traducándose así en una muy superior profundidad de campo del SEM respecto al microscopio óptico [76]. También es directamente responsable de la mayor resolución de las imágenes, ya que la distancia mínima resoluble es proporcional a la longitud de onda.

A continuación, en la Tabla 2, se resumen las principales diferencias entre el microscopio óptico y SEM:

	Microscopio óptico	SEM
Iluminación de la muestra	Haz de luz	Haz de electrones
Lentes	Vidrio	Bobinas magnéticas
Observación	Lente ocular (o pantalla, si se acopla una cámara CCD)	Pantalla
Aumentos	1000	100000
Poder de resolución	200nm	3,5 a 5nm

Tabla 2. Principales diferencias entre microscopio óptico y SEM [76].

Para poder adquirir digitalmente las imágenes observadas con los microscopios, el SEM estará conectado a un ordenador y el microscopio óptico lo estará a una cámara digital que, a su vez, se conectará a un ordenador [94]. De esta manera, para ambos tipos de microscopio, las imágenes digitales obtenidas quedarán recogidas como archivos informáticos para así proceder, posteriormente, a su procesamiento y análisis [94].

Las principales ventajas que presenta el **microscopio óptico** es su fácil manipulación y calibrado y, sobre todo, el hecho de que las muestras no requieran tratamiento previo para poder ser estudiadas [95]. Esta situación hace que las imágenes obtenidas a partir del microscopio óptico reproduzcan fielmente la superficie de las muestras [95].

Las muestras podrían estudiarse a varios aumentos, entre x3,5-x100 [95].

Dentro de los microscopios ópticos está la variante confocal, que permite realizar cortes ópticos finos a la muestra y, posteriormente, realizar reconstrucciones en tres dimensiones [96]. A este tipo de microscopio, cabe la posibilidad de añadirle un tinte fluorescente con el fin de estudiar la adaptación entre el diente y el material de obturación, consiguiéndose las siguientes ventajas: poca preparación de las muestras, no desecación de las muestras, imágenes de gran resolución y visión directa [1, 86].

El **SEM** posibilita el estudio de la capacidad de sellado entre la dentina y los materiales endodónticos, gracias a la magnificación y resolución a las que permite trabajar [86, 97, 98]. Sin embargo, y a pesar de la calidad de las imágenes que aporta el SEM, no dejan de ser imágenes planas que no permiten la reconstrucción en tres dimensiones [97, 98].

La principal desventaja del uso del SEM es que en el interior de la cámara de muestras, se somete a éstas a alto vacío pudiendo generar artefactos, como cracks en los tejidos duros, deshidratación y contracción y/o expansión tanto en los dientes como en los materiales a estudiar [86, 97, 98]. Incluso, el vacío podría ocasionar separación entre el diente y el material de restauración, falseando los resultados de adaptación [86, 97, 98] .

Esta situación adversa puede evitarse utilizando réplicas, que consisten en una impresión de la superficie a estudiar con un material plástico, que luego podría vaciarse en resina [86, 97, 98]. Tanto el material plástico como la resina son materiales a los que no les afecta el vacío, por lo que no habría problemas de artefactos al introducirlos en el SEM [86].

Sin embargo, el uso de réplicas no está exento de posibles limitaciones, pues es necesario que la impresión sea correcta, sin presencia de burbujas, que la resina polimerice bien y que la réplica no se fracture, antes de poder ser estudiadas con el SEM [86].

Dentro de los SEM, existe la variedad ambiental (environmental SEM o ESEM). Éstos permiten el estudio de las muestras estando hidratadas, ya que emplean diferentes modos de vacío [98, 99]. En caso de emplear bajo vacío, se limitará la resolución a utilizar para estudiar las muestras [98, 99]. La gran ventaja de esta variedad de SEM es que no es necesario pretratar las muestras (fijado, secado y metalizado) y, por tanto, no hará falta confeccionar réplicas [98, 99].

1.3.4. Estudio del color

Dada la implicación en la estética que tienen los materiales dentales en la actualidad, se considera imprescindible el estudio de su color. Para ello existen diferentes métodos como son la espectrofotometría y el análisis digital del color.

La **espectrofotometría** mide la respuesta de color para toda la gama espectral del visible, de manera que interpreta el color básicamente de la misma forma que lo hace el ojo humano [100].

Su funcionamiento consiste en iluminar la muestra de color con una luz blanca y calcular la luz que dicha muestra refleja en una serie de intervalos de longitudes de onda [100]. Esto se consigue haciendo pasar la luz reflejada a través de un dispositivo que fracciona la luz en distintos intervalos de longitudes de onda [100]. Finalmente, con los valores recogidos, es posible reproducir su espectro de reflectividad, es decir, la representación gráfica de la cantidad de luz reflejada por el cuerpo respecto de la cantidad de luz total que ha incidido sobre el mismo en cada longitud de onda o banda de color [100].

Para obtener una lectura correcta es importante calibrar previamente el espectrofotómetro con placas de calibración blancas y negras, cuya reflectividad en cada segmento de longitudes de onda es conocida [100].

El software del espectrofotómetro mide la diferencia de color (ΔE) y las coordenadas del color (ΔL^* , Δa^* , Δb^*), donde ΔL es el cambio de luminosidad, que va desde 0 (negro) hasta 100 (blanco), Δa^* es el parámetro que mide la diferencia relativa entre rojo-verde y Δb^* , entre amarillo y azul [13]. La diferencia de color se calcularía de la siguiente manera [13]:

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

La **imagen digital** se encuentra en la memoria del ordenador como una matriz de píxeles. Un pixel (picture element), corresponde al elemento mínimo de la imagen que puede ser sólo un número (si es en niveles de gris) o varios números (si es en color, por lo menos, rojo, verde y azul).

Cada uno de los píxeles contiene una información numérica correspondiente al valor de gris que se asignó. Además, existe una relación entre el brillo y el nivel de gris de la imagen. Como consecuencia de estas dos situaciones, la información de la imagen se podrá representar en forma de gráfica en la que el número de valores de gris se muestra como barras de frecuencia agrupadas por clases [101].

La forma habitual de representación es colocar en el eje de abscisas tantas clases como posibles niveles de gris haya y en el eje de ordenadas el número de píxeles (frecuencia) que tienen asignado ese preciso valor de gris de su clase y se denomina histograma [101].

El histograma de grises permite constatar la homogeneidad de intensidad de gris de la imagen o una región de interés en la imagen, porque muestra los píxeles agrupados por frecuencias, por lo que el contraste de la imagen también se refleja en la forma del histograma [101]. Una imagen poco contrastada o una región homogénea, mostrará un histograma con la mayor parte de los píxeles distribuidos en una única zona, agrupados todos alrededor de un máximo de frecuencia de posición central que caracteriza el brillo típico de la zona [101]. Por el contrario, un histograma que abarca todos los posibles niveles de gris, con los máximos relativos muy separados, es propio de imágenes de alto contraste entre sus distintas partes o regiones heterogéneas [101].

2. OBJETIVOS EN ENDODONCIA

El hecho de que haya mayor conocimiento de la patogenia y anatomía de complejo dentino-pulpar, ha generado que la definición clásica de endodoncia deba ampliarse. Por ello, actualmente, los objetivos del tratamiento endodóntico convencional y/o quirúrgico se consideran:

- Eliminar todo el contenido del sistema de conductos: pulpa sana, pulpa necrótica, restos orgánico e inorgánicos y microorganismos empleando mecanismos químicos y mecánicos [1, 78, 85].
- Prevenir la recontaminación del sistema de conductos mediante un sellado tridimensional que cree una barrera entre la microflora oral, el conducto radicular y los tejidos periapicales [1, 78, 80, 85, 87, 102, 103].

Si estos objetivos se cumplen, se conseguirá reparar o regenerar a los tejidos perirradiculares [78]. Aunque no se consiga la completa eliminación bacteriana, si existe un buen sellado, es posible conseguir éxito en el tratamiento. Sin embargo, si el sellado es deficiente, habrá movimiento de las bacterias en los defectos de adaptación del material con respecto al diente generándose inflamación crónica perirradicular y, por tanto, se comprometería el éxito del tratamiento tanto en endodoncia convencional como quirúrgica [78, 80, 85, 103-106].

En la actualidad, no existe ninguna técnica capaz de eliminar por completo las bacterias de los conductos radiculares [82]. Por ello, el objetivo se centra, principalmente, en emplear un material capaz de sellar volumétricamente y que evite la formación de lesiones radiculares [1, 82, 85, 107, 108]. Para el caso de tratamiento de conductos ortógrado no quirúrgico, los materiales más empleados son la combinación de gutapercha y cemento sellador [104, 107]. Mientras que para los casos complejos, en los que se

produce comunicación entre el endo y periodonto, se han barajado muchos materiales de sellado, pero ninguno cumple con todos los objetivos que se le pide a un material sellador [79, 80, 87, 88, 102, 105-107]. En la actualidad, se considera que los mejores materiales para estos casos son los MTA y los materiales biocerámicos[109].

2.1. Evolución de los materiales de sellado endo-periodontales en Endodoncia

Clásicamente, los materiales que se han empleado para solventar las diferentes comunicaciones endo-periodontales son: amalgama de plata, SuperEBA, Intermediate Restorative Material, cemento de vidrio ionómero y resinas de composite [24, 52, 90, 110-112]:

Hasta el año 2000, la **amalgama de plata** era el material más empleado [28, 78, 85, 88, 105]. Sin embargo, presenta una serie de problemas, como falta de sellado inicial, corrosión secundaria, interacción galvánica, la posible toxicidad del mercurio, la necesidad de tener una cavidad retentiva en la que introducir el material, dispersión de partículas de amalgama y la decoloración tisular [1, 88, 102, 107].

Como alternativa a la amalgama de plata, surgió **SuperEBA**, un cemento de cinc eugenol modificado mediante ácido etoxibenzoico, que contiene, además ácido etoxibenzoico [78, 85, 88, 102, 105]. Es capaz de adherirse a las paredes dentinarias y se relaciona con la formación de fibras de colágeno [85, 88]. Sin embargo, tiene una serie de inconvenientes: es sensible a la humedad, el eugenol irrita los tejidos periapicales, es soluble en los fluidos orales, presenta una técnica de colocación compleja y es radiolúcido [1, 85, 88].

Intermediate Restorative Material (IRM) es un cemento de zinc eugenol reforzado por la adición de un 20% de polimetacrilato [99]. Es un

material de sellado muy empleado porque se adapta muy bien a la dentina, sus propiedades no se ven afectadas por la proporción polvo-líquido y es de fácil manipulación [99]. Sin embargo, se considera un material irritante para los tejidos periapicales al contener eugenol [99].

El **cemento de vidrio ionómero (CVI)** es un material de sellado muy biocompatible, que no provoca cambios histológicos adversos en los tejidos periapicales [99]. Es capaz de adherirse al esmalte y a la dentina, siempre que no exista humedad [99].

Las **resinas de composite** son materiales que también se han probado para el sellado [78, 85, 105]. Sin embargo, los composites se contraen durante la polimerización y no se adhieren en presencia de humedad [85, 91].

3. AGREGADO TRIÓXIDO MINERAL

3.1. ProRoot®. Ángelus®

En referencia a los nuevos materiales para tratamientos endodónticos completos, en 1995 Torabinejad y White patentaron el agregado trióxido mineral (MTA) que había sido desarrollado en la Universidad de Loma Linda (California, EEUU) [1, 19, 26, 27, 113-116].

Tras recibir la aprobación para ser utilizado, en 1998 Dentsply Tulsa Dental (Oklahoma, EEUU) comercializó en el mercado norteamericano el MTA como ProRoot® MTA, que consistía en un polvo grisáceo [3, 10, 38, 39, 49, 58, 110, 111, 117-119].

En 2001, se lanzó al mercado el MTA Ángelus de la casa comercial Ángelus Odonto-Logika (Londrina, Paraná, Brasil), que igualmente consistía en un polvo gris [21, 58, 120].

A partir de 2002 ambas casa comerciales, variaron la presentación de color gris a blanco con el fin de mejorar el aspecto estético del MTA [21, 27, 49, 58, 60, 111, 121].

3.2. Composición del MTA

Según los fabricantes y estudios posteriores realizados con microscopía electrónica de barrido con EDX y XPS [3, 10, 21, 22, 27, 31, 54, 60, 64, 113, 114, 121-130], los componentes del polvo de MTA son los siguientes:

- 75% silicato tricálcico (Ca_3SiO_5), aluminato tricálcico ($\text{Ca}_3\text{Al}_2\text{O}_3$), silicato dicálcico (CaSiO_4), ferrito-aluminato tetracálcico ($\text{Ca}_4\text{Al}_2\text{Fe}_2\text{O}_{10}$).

- 20% óxido de bismuto (Bi_2O_3).
- 4,4% sulfato de calcio (CaSO_4).
- 0,6% sílice (SiO_2), óxido de calcio (CaO), sulfato de potasio (K_2SO_4), sulfato de sodio (Na_2SO_4).

El óxido de bismuto es un material insoluble que se añade al MTA con el fin de proveerlo de radiopacidad, suavizar la mezcla del cemento, proporcionar una masa más homogénea y hacer más fácil su manipulación [2, 27, 54, 60, 131, 132]. Sin embargo, el óxido de bismuto también hace que el MTA sea menos biocompatible, reduce su resistencia mecánica y aumenta su porosidad [125, 132-134].

Una vez el material ha fraguado, se ha comprobado mediante DRX, que el MTA está formado por una fase de cristales discretos y otra con apariencia amorfa [27, 60]. Los prismas de la fase cristalina se componen en un 87% por calcio y el 2,4% por sílice; mientras que la fase amorfa presenta un 33% del calcio, 49% por fosfato, 2% de carbono, 3% del cloruro y 6% de sílice [27].

2.3.1. Diferencias entre MTA y cemento Pórtland

Los componentes anteriormente descritos, son los mismos que constituyen el cemento de construcción Pórtland. La única diferencia en cuanto a la composición es que el polvo del MTA contiene óxido de bismuto [3, 10, 27, 54, 58, 60, 64, 97, 113, 114, 119, 120, 123-125, 128, 129, 132, 135-141].

A pesar de las similitudes en la composición entre el cemento Portland y el MTA, los estudios indican que el cemento Pórtland no puede utilizarse a nivel dental, ya que sus procesos de fabricación, tratamiento y almacenaje

son completamente diferentes [6, 142-145]. En cualquiera de estas fases, el cemento Pórtland podría verse mezclado y/o contaminado por agentes externos con gran facilidad [142, 144, 145]. De hecho, las investigaciones han mostrado que el cemento Pórtland contiene, además, metales pesados como arsénico, no tiene radiopacidad adecuada, tiene mayor tiempo de trabajo, su tamaño de partículas es mayor que las de MTA y su solubilidad es relativamente mayor [3, 21, 64, 67, 119, 121, 125, 127, 135, 142, 144-147]. Por tanto, dado que las propiedades físico-químicas de ambos materiales son diferentes y que podría llegar a ponerse en juego la salud del paciente, el cemento Pórtland no posee la aprobación de la Food and Drug Administration (FDA) para su uso oral [3, 64, 90, 119, 120, 123-125, 127, 132, 142, 147, 148].

3.2.2. Diferencias entre MTA ProRoot® y MTA Ángelus®

Ambos tipos de MTA presentan la misma composición, pero diferente aporte por compuestos; estas diferencias repercutirán directamente en su manejo y radiopacidad [3, 4, 26-29].

MTA Ángelus® contiene menos concentración de sulfato de calcio deshidratado, reduciéndose así el tiempo de fraguado de 165 minutos para Coloured ProRoot® MTA a 10 minutos en el caso del MTA Ángelus® blanco y MTA Ángelus® gris [58, 116].

La concentración de óxido de bismuto es menor en MTA Ángelus® blanco y MTA Ángelus® gris, lo que les hace ser menos radiopacos que Coloured ProRoot® MTA [58, 115, 123, 128, 131].

3.3. Mecanismo de acción del MTA

A diferencia de los sistemas tradicionales utilizados en odontología, el MTA es un material hidrófilo, que depende directamente del agua destilada

para producir silicato de calcio hidratado e hidróxido de calcio durante su fraguado [4, 10, 19, 24, 26, 27, 31, 53, 54, 111, 121-124, 126, 135, 149-154].

Cuando las partículas de MTA reaccionan con el agua destilada, se forma un gel de silicato de calcio hidratado, con áreas de hidróxido de calcio [27, 150, 151, 155-157]. El gel de silicato de calcio polimeriza, endurece con el tiempo y crece en las zonas de poros y espacios, al tiempo que aumenta su fuerza mecánica [27, 150, 151, 155-157]. La solubilidad del hidróxido de calcio hace que se reduzca su concentración en las superficie del MTA y, de este modo, aumenta la alcalinidad ambiental, que tiene efectos antibacterianos [27, 123, 150, 151, 155-157].

3.4. Manejo del MTA

El MTA es un material de manejo complejo, pues hay que ser especialmente cuidadoso en su mezclado y su poca consistencia final dificulta poder llevarlo a la localización deseada [24, 50, 64, 111, 113, 121, 152, 154, 158, 159].

El MTA debe espatularse inmediatamente antes de su uso sobre una loseta de vidrio o papel en las proporciones del polvo-agua que indican los fabricantes para que no se afecten sus propiedades finales [24, 26, 113, 160]. Los fabricantes indican que han de mezclarse 0,35ml/g de polvo de Coloured ProRoot® MTA o 0,28ml/g de polvo de MTA Ángelus® blanco o MTA Ángelus® gris durante, al menos, 2-5 minutos. La finalidad será conseguir que las sales presentes en el polvo se disuelvan en el agua destilada formando una matriz cristalina que proporcione la consistencia y propiedades finales adecuadas [26, 111, 161]. Si se añade un exceso de agua, el material perderá consistencia, aumentando su solubilidad y porosidad [161].

En los primeros momentos del espatulado, la consistencia del cemento es acuosa [22, 155, 162]. Tras completar los 5 minutos de mezclado, la consistencia se torna parecida a la de “arena mojada” o “cremosa densa”,

que, con dificultad permitiría llevar el material a su localización [22, 161]. El MTA se llevará a la zona operatoria mediante un transportador de amalgama o instrumento plástico y se empaquetará con ayuda de atacadores o bolitas de algodón [24, 163].

El MTA debe colocarse sobre zonas secas [7, 24, 135, 152]. Esto resulta especialmente difícil en los casos en los que se tenga que colocar el MTA en un campo quirúrgico [7, 152]. Para su consecución podrían utilizarse anestésicos locales con vasoconstrictor, cauterización química y eléctrica, barreras mecánicas, etc [7]. Si el MTA se mezcla con sangre en vez de con agua destilada, no se generarán las estructuras cristalinas de hidróxido de calcio que se esperan que se formen en las primeras fases del proceso de hidratación, siendo la consistencia de sellado subóptima [78, 164-166].

Una vez colocado, excepto en caso de que el MTA se aplique con abordaje quirúrgico, debe colocarse un algodón húmedo durante un mínimo de 3 o 4 horas para aportar la humedad que necesita el cemento para completar su fraguado y, encima, un material provisional que ayude a preservar la integridad del MTA y lo proteja mecánicamente [24, 167-169].

Si el MTA fragua sin humedad, se contrae un 0,1% en vez de expandirse, afectándose así la capacidad de sellado final [111]. De hecho, MTA ProRoot® gris necesita, al menos, 7 veces su volumen inicial en las primeras 24 horas para fraguar correctamente y, aunque sigue fraguando hasta los 21 días, la demanda de humedad es menor pasadas las primeras 24 horas [160].

3.5. Biocompatibilidad

La biocompatibilidad se define como la capacidad que tiene un material para sobrevivir, resistir a la degradación y corrosión del cuerpo y no producir reacciones biológicas en el organismo (toxicidad, inflamación, alergias) [170].

Según los estudios [5, 6, 11, 125, 129, 140, 154, 159, 171-177], la biocompatibilidad del MTA es su principal virtud, pues en la mayoría de las investigaciones realizadas in vivo o in vitro, se obtiene respuesta favorable en los tejidos con los que el MTA entra en contacto, tanto en solitario como comparado con otros materiales (amalgama de plata, IRM, SuperEBA, resinas de composite).

La biocompatibilidad del MTA y del hidróxido de calcio se basa en su mecanismo de acción común; durante el proceso de fraguado y debido a la humedad y su pH alcalino, se libera hidróxido de calcio, el cual induce a la formación de depósitos de hidroxiapatita que será el sustrato para la aposición de tejido duro [9, 10, 12, 19, 25, 27, 30, 52, 113, 120, 134, 154, 155, 161, 167, 175, 177-186]. El hecho de que sobre el MTA se pueda inducir la formación de tejido duro, hace que se le considere un material bioactivo [9, 19, 25, 126, 154, 155, 175, 177-179, 181, 182, 185-188]. La bioactividad es lo que diferencia al MTA del resto de los materiales convencionales, puesto que al activar a los cementoblastos conseguiría sellar mejor que el resto de los materiales [154, 185].

La biocompatibilidad del MTA se ha cuantificado realizando estudios, in vivo e in vitro, sobre todo con pruebas de citotoxicidad [129, 156, 159, 171-174, 189, 190] y pruebas en animales de experimentación [140, 154, 175, 177, 191, 192]. Los parámetros a medir que indicarían mayor biocompatibilidad son: mayor adhesión y expansión de las células con capacidad regenerativa [3, 126, 159, 190, 192, 193], diferenciación odontoblástica [194], no existencia de muerte celular [171, 179], menor respuesta inflamatoria, mayor regeneración ósea cerca de la lesión [171, 179] y presencia de función mitocondrial celular [172, 174].

3.5.1. Pruebas de citotoxicidad

La biocompatibilidad del MTA se ha investigado in vitro utilizando osteoblastos o fibroblastos de humanos o de ratón [113, 118, 134, 159, 188,

189, 191, 195]. En caso de sobrevivir en presencia del MTA, serían capaces de adherirse y extenderse sobre la superficie del MTA y hasta de crear una matriz, al tiempo que expresan genes asociados a la reparación ósea y depósito de cemento [133, 188, 196, 197]. En los estudios in vitro, se ha comprobado con el SEM que a las 4 horas de haberse colocado el MTA sobre un cultivo de fibroblastos, se observan ya células planas adheridas al MTA [118, 134, 156, 159, 189, 191, 195].

3.5.2. Reacción inflamatoria

En los estudios realizados con células endoteliales humanas y de ratón, se obtiene, en un primer momento, muerte celular alrededor del MTA fresco, aunque en zonas adyacentes al cemento, el crecimiento y aspecto celular es completamente normal [64, 189]. Al fraguar el MTA, desaparece la zona de muerte celular, observándose crecimiento celular normal [64, 189].

Las investigaciones llevadas a cabo en implantes intraóseos y tejido subcutáneo realizados con roedores [64, 140, 155, 176, 192, 198], muestran que no se produce lesión inflamatoria en los tejidos circundantes al MTA y que éste es capaz de formar cristales de calcita, rodeados de tejido calcificado. El que no se observe una zona con muerte celular podría deberse a que los estudios con animales se realizan aproximadamente a los 4-6 meses tras la colocación del material y el MTA ya estaría completamente fraguado.

En perforaciones radiculares, apicectomías y cavidades a retro realizadas en dientes de perros y monos selladas con MTA, se observa ausencia de inflamación y formación de hueso y aposición de cemento alrededor del MTA a los 4-6 meses del tratamiento [18, 24, 154, 175, 177, 181, 199, 200]. El depósito de cemento podría deberse a fragmentos residuales de ligamento periodontal o surgir por la estimulación de citoquinas liberadas desde las células del hueso [156, 177, 199].

3.5.3. Diferenciación odontoblástica

Con respecto al contacto del MTA con la pulpa dental en los recubrimientos pulpaes directos, la alcalinidad del MTA crea un ambiente adecuado para que los fibroblastos humanos induzcan la diferenciación odontoblástica de las células pulpaes, consiguiéndose así el proceso reparativo de la pulpa [194, 201-204].

En los estudios en los que se realizan recubrimientos pulpaes en animales (monos, perros, ratas) que se sellan con MTA, se forman puentes dentinarios gruesos que cierran la exposición, habrá ausencia de inflamación y se estimulara la formación de tejido duro, manteniendo siempre la vitalidad pulpar [18, 25, 148, 191, 202, 203, 205].

3.6. Tamaño y forma de las partículas de MTA

El tamaño y forma de las partículas de MTA van a condicionar sus propiedades biológicas, físicas y, sobre todo, su capacidad de sellado [58, 67, 206].

Se ha comprobado, que, en función del tamaño y forma de las partículas, habrá diferente grado de adhesión celular en la superficie del MTA [60, 125, 207, 208]. Además, en caso de predominar las partículas de pequeño tamaño, la superficie disponible para la hidratación aumentará y el mezclado será mucho más fácil de llevar a cabo [10, 58, 67, 113, 118, 206].

En relación al sellado marginal, habría que relacionar el tamaño y forma de las partículas con respecto al tamaño de las bacterias que podrían llegar a penetrar en los túbulos dentinarios y con el propio diámetro de los túbulos dentinarios [66, 112, 124].

Con respecto al tamaño de las bacterias se conoce que éste estará en torno a 1,5 μm , que es lo que mide en media el diámetro máximo de *Staphilococcus* y *Streptococcus* (*S. Faecalis*) [209].

En referencia al diámetro medio de los túbulos dentinarios, éste oscila entre 2-5 μm , siendo de menor tamaño los situados en apical comparados con la porción coronal radicular [66, 72].

Como consecuencia del diámetro medio de las bacterias y de los túbulos dentinarios, lo ideal sería fabricar MTA cuyas partículas tuviesen, en su mayoría, un tamaño medio menor que el de los túbulos dentinarios con el fin de que las partículas pudieran penetrar en ellos [66, 112]. Con ello, aumentaría la interfaz entre el material y la dentina, mejorando la capacidad de sellado mecánico y retención del material [52, 112]. Además, al penetrar en los túbulos, se envolverían las bacterias residuales y los propios componentes antibacterianos del MTA podrían eliminar dichas bacterias [52, 66, 112].

Existen otra serie de factores que podrían condicionar que las partículas de MTA lleguen a penetrar en los túbulos dentinarios, como son: presencia de barrillo dentinario, permeabilidad de la dentina y de la técnica de obturación [112].

El barrillo dentinario surgirá como consecuencia de la preparación de la cavidad y/o de los conductos, ya sea manual o mecánicamente, produciendo una fina capa formada por: restos de dentina y esmalte, material orgánico (restos de pulpa, bacterias y células sanguíneas) y bacterias [210, 211]. Su presencia, por tanto, limitará en gran medida la penetración del MTA en los túbulos dentinarios [212].

Al estar formado el barrillo dentinario por sustancias orgánicas e inorgánicas, será necesario el empleo de sustancias irrigantes combinadas para su completa eliminación [211]. Para ello, se propone emplear como disolvente de los tejidos orgánicos el hipoclorito de sodio e intercalarlo con

agentes quelantes, como etilendiaminetetracético (EDTA) al 17% durante 5 minutos [52, 211, 213-215] o doxiciclina, ácido cítrico y polisorbato (BioPure MTAD®) 5 minutos [211, 213, 214], que eliminan los detritus y el barrillo dentinario. El lavado final deberá realizarse mediante hipoclorito de sodio al 2,5% 1 minuto, pues no conviene que los quelantes interfieran en el fraguado del MTA, ya que resultaría un cemento más frágil y con peor biocompatibilidad [213-215].

En referencia a la permeabilidad dentinaria, ésta será mayor en los túbulos del tercio superior y medio radicular en comparación con la dentina apical [112].

Finalmente, la técnica de obturación también influye a la hora de que el MTA pueda entrar en los túbulos dentinarios. Por ello, una de las opciones que se proponen es el empleo de ultrasonidos para la condensación del MTA [4, 12, 15].

Esta técnica se ha empleado en tapones apicales, perforaciones, reabsorciones radiculares, cirugía periapical y obturación coronaria [1, 4, 18-22].

3.7. Indicaciones actuales del MTA

Ya desde los primeros estudios, Torabinejad describió el MTA como un material cuya principal cualidad es la capacidad de sellado entre el espacio pulpar y los tejidos perirradiculares [7, 11, 24, 90, 97]. Por ello, el MTA estará indicado en aquellas situaciones en las que haya que aislar el espacio pulpar ya sea del periodonto o del medio oral, como en casos de tapones apicales en ápices abiertos, reparaciones de perforaciones radiculares, material a retro en cirugía endodóntica, obturación coronaria y reabsorciones internas [1, 4, 18-22]. Aún no habiendo compromiso, endo-periodontal, también está indicado en pulpotomías y recubrimientos pulpaes directos [23-25].

3.7.1. Pulpotomías

Hasta la aparición del MTA para la realización de pulpotomías, los materiales más utilizados eran el hidróxido de calcio, el formocresol y el sulfato férrico [26, 55, 216]. Actualmente, estos materiales se consideran irritantes y capaces de provocar respuesta inflamatoria en la pulpa dental [55, 216, 217]. Además, el hidróxido de calcio es un material que se reabsorbe con el tiempo [25, 55, 186, 218, 219].

Mientras que el porcentaje de éxito de las pulpotomías llevadas a cabo con MTA oscila entre 93-98,5%, las realizadas con formocresol son de un 77,83%, sulfato férrico 73% e hidróxido de calcio de un 46% [25, 217-220]. Por ello, el MTA ha pasado a considerarse el material *gold standard* para la realización de pulpotomías, ya que es capaz de formar puentes dentinarios y no generar repuesta inflamatoria [24-26, 30, 111, 124, 126, 153, 160, 183, 191, 204, 221-227].

3.7.2. Recubrimientos pulpaes directos

Ante la posibilidad de tener que realizar un recubrimiento pulpar directo, habrá que tener en cuenta que el éxito del tratamiento dependerá directamente de que el diente sea vital, no exista historia de dolor espontáneo previo, ni dolor a la percusión ni a la palpación antes de realizar el recubrimiento [228]. Estas características son más importantes que el propio material a utilizar para la realización del recubrimiento pulpar.

Torabinejad [24] describió que uno de los factores de los que depende el éxito del tratamiento de una exposición pulpar es la capacidad de evitar el filtrado bacteriano que tenga el material que se vaya a colocar sobre la exposición. Dada la gran capacidad de sellado del MTA, se considera el material ideal para dicho tratamiento [23-25]. Además, cuando el MTA entra en contacto directo con la pulpa dental en exposiciones pulpaes, éste promueve la expresión de genes odontoblasticos, estimulándose así la

formación de puentes dentinarios [228-230]. Debido a estas ventajas, el MTA es un material de pronóstico más fiable, con actuación más rápida y que consigue la formación de puentes dentinarios de mayor grosor que el hidróxido de calcio [227, 231].

3.7.3. Tapones apicales

Clásicamente el tratamiento del diente necrótico con ápice abierto se ha realizado mediante hidróxido de calcio buscando formar una barrera apical de tejido duro (apexificación) y ganar anchura radicular [232]. Para conseguir dichos objetivos, el material permanecería 5-20 meses en el interior del conducto radicular, debiendo acudir en numerosas ocasiones a revisiones clínicas y radiológicas a la clínica dental [232]. Al ser un tratamiento largo, cabía la posibilidad de que el paciente abandonara el tratamiento sin finalizarlo y existía gran riesgo de filtración coronaria [232]. Sin embargo, el mayor problema de la utilización del hidróxido de calcio es que es capaz de alterar las propiedades mecánicas de la dentina radicular haciéndola más susceptible a la fractura de la raíz y a las reabsorciones radiculares internas [232, 233].

Debido a las limitaciones del hidróxido de calcio como material para la apexificación, surge la alternativa de crear un tapón apical de MTA [23, 24, 186, 232, 234-237]. Este tratamiento es más rápido, ya que puede completarse en una o dos sesiones, adelantando así la colocación de la restauración definitiva, evitándose la filtración coronaria y la posible fractura radicular por exposición al hidróxido de calcio [24, 80, 135, 232, 234, 238].

Además el MTA consigue dar una gran consistencia apical y previene la filtración bacteriana, siempre y cuando tenga un espesor mínimo de 4mm [117, 232, 236, 239, 240]. Una vez fraguado el MTA, se podrá obturar el conducto con gutapercha [22, 24, 124, 234, 237, 238, 241, 242].

Los estudios clínicos exponen que el 77-85% de los dientes definitivos con ápices abiertos tratados con MTA presentan formación de tejido óseo apical a los 1-3 años [24, 232, 243].

Existen casos excepcionales en los que, en vez de realizar un tapón de MTA, se rellena la integridad del conducto con dicho material. Se indica dicha aplicación en casos de avulsión en los que se busca no forzar las paredes del conducto durante la obturación del mismo o en casos de dientes invaginados [244-246].

Incluiremos en este apartado los tratamientos de revascularización de dientes definitivos con ápice inmaduro y pulpa necrótica [247, 248]. El objetivo es permitir el desarrollo radicular y la deposición de tejido duro en el conducto. Se basa en el concepto de que las células madre vitales que pueden sobrevivir a la necrosis pulpar son capaces de diferenciarse en odontoblastos secundarios y contribuir a la formación del tejido radicular. En estos casos, una vez desinfectado el conducto y la aplicada de la pasta triantibiótica, se inducirá el sangrado intraconducto. Posteriormente, será necesario sellar herméticamente el acceso al conducto radicular para evitar la entrada de bacterias. Para la consecución de este último objetivo, está indicado el uso de MTA.

3.7.4. Perforaciones radiculares

Las perforaciones radiculares son procedimientos iatrogénicos que pueden surgir durante la apertura cameral, búsqueda de los conductos radiculares o, incluso, durante la preparación de lecho para postes [18, 19, 22, 24, 84, 103, 124, 126, 249-251].

El propósito de sellar las perforaciones radiculares es conseguir sellar la comunicación artificial, o no, entre el espacio periodontal y en el tejido perirradicular para prevenir la reabsorción del hueso alveolar y el daño del ligamento periodontal [252].

Las perforaciones radiculares, sea cual sea su origen, pueden abordarse intraconducto o vía quirúrgica [24]. Para sellarlas se han usado diversos materiales, pero se ha comprobado que con el MTA se obtienen los resultados más favorables, pues se consigue inexistencia de imagen radiolúcida alrededor de la perforación, ausencia de dolor, estabilidad funcional y menor filtración bacteriana anaeróbica en la zona de la perforación que con otros materiales de sellado [19, 22, 55, 103, 126, 242, 249, 250, 252-254]. Además, en las perforaciones selladas con MTA puede depositarse cemento [18].

3.7.5. Cirugía periapical

Cuando existen infecciones peripicales persistentes, los tratamientos convencionales fracasan o no pueden llegar a realizarse, se propone la realización de cirugía endodóntica [7, 22, 24, 27, 135, 158, 193, 255]. El proceso suele consistir en exponer el ápice radicular afectado, seccionar la porción apical afectada, preparar una cavidad clase I e insertar el material de obturación en la cavidad [7].

Se considera de esencial importancia seleccionar bien los casos en los que realizar cirugía periapical, así como conocer la técnica quirúrgica adecuada, puesto que son igual de importantes que la selección de un material u otro para llevar a cabo el tratamiento [158, 256].

Como material de cirugía a retro, el MTA se caracteriza por tolerar muy bien la humedad [257]. Es más, necesita de ambiente húmedo para fraguar en condiciones óptimas, lo que lo hace ideal como material para un campo quirúrgico [122, 257, 258]. El ambiente húmedo es muy importante, pero cabe destacar que no debe contaminarse con sangre, puesto que podrían afectarse la resistencia al desplazamiento y su fraguado [7, 166].

3.7.6. Obturación coronaria

El MTA se puede utilizar como tapón coronario sobre la obturación de los conductos radiculares, bien como aislamiento para aplicar materiales de blanqueamiento interno o para tratamientos de revascularización. Para ambos casos, será necesario que la porción de MTA preparada tenga una longitud mínima de 4mm [24].

En relación al blanqueamiento interno, se considera que el MTA es lo suficientemente aislante como para evitar que los agentes blanqueantes pudieran penetrar y ocasionar reabsorciones internas [24].

Para casos de revascularización, se busca un sellado hermético de la entrada al conducto radicular para conseguir el engrosamiento de las paredes del diente, el cierre apical y alargamiento de la raíz de diente joven permanente [259, 260]. En estos casos, el objetivo es conseguir que desaparezca la periodontitis apical y exista de nuevo vitalidad pulpar [259-261]. El conjunto de las propiedades del MTA y, sobre todo, su capacidad de sellado, hacen que el MTA sea el material indicado para este tratamiento [259, 260, 262].

3.8. Evolución del MTA: color

Algunas de las nuevas indicaciones del MTA suponen que haya que colocarlo en la porción coronal del diente [14, 41, 43, 45, 46, 49, 218, 246]. Esto ocasionaba que, bien por transparencia, bien por decoloración de la dentina, los tratamientos realizados con MTA gris presentaran estética limitada, sobre todo, en dientes del frente anterior [39, 49, 263-265].

Por ello, a partir de 2002 ambas casas comerciales (Dentsply y Ángelus) transformaron el MTA gris en blanco para mejorar el aspecto estético del cemento, pero manteniendo siempre las propiedades fisicoquímicas y biológicas del material original [21, 27, 49, 60, 111, 113, 121,

134, 155, 266, 267]. Para ello fue necesario reducir el porcentaje de hierro y aluminio de la composición inicial, con el fin de disminuir el porcentaje de aluminoferrito responsable de la coloración gris [3, 10, 39, 58, 60, 64, 67, 113, 117-119, 121, 128, 134, 142, 202, 206, 263, 267].

3.8.1. Diferencias entre MTA blanco y gris

Existen estudios en los que, como consecuencia de la diferente composición entre el MTA gris y blanco, se obtiene que el MTA gris expande más y tiene mayor poder antibacteriano que el blanco [111, 153, 268].

Otros estudios [3, 118] describen una mayor variabilidad en la morfología de las partículas del MTA gris que en las del blanco, lo que favorecería la adhesión celular sobre el primero.

Con respecto a las diferencias en la capacidad de sellado entre el MTA gris y blanco, se obtienen con ambos muy buenos resultados, aunque varios estudios se decantan a favor de la variedad gris [3, 80, 84, 117, 142, 198, 223].

3.9. Adaptación MTA-dentina

Con cualquiera de los sistemas de medición de sellado marginal utilizados (tintes, fluidos, bacterias y microscopía), se obtiene casi por unanimidad que el MTA presenta mejor capacidad de sellado que el resto de los materiales convencionales, tanto in vitro como in vivo, en comparación con la amalgama de plata, SuperEBA e IRM [1, 6-8, 11, 28, 32, 51, 84, 85, 87-90, 98, 103, 105-107, 136, 173, 178, 185, 187, 198, 240, 256, 267, 269-276].

4. PROBLEMÁTICA ACTUAL DEL AGREGADO TRIÓXIDO MINERAL

A pesar de las ventajas descritas, el MTA presenta una serie de problemas asociados a su uso clínico, que han de ser considerados [9, 11, 113]:

4.1. Manejo del MTA: mejor adaptación a las paredes dentinarias

Dadas las características del manejo del MTA, para conseguir una adaptación correcta es necesario que las partículas del material queden a una distancia mínima y que hayan sido lo suficientemente presionadas para adaptarse a las paredes de la cavidad, pero dejando que entre suficiente humedad al interior de la masa para completar su fraguado [12].

Para ello, y dado que el MTA no posee capacidad de adhesión a la dentina, es necesario que se aloje en una cavidad retentiva [27, 163, 277]. Además, deberá haber un espesor mínimo de 4mm para conseguir un sellado correcto [105].

Una opción que se baraja para conseguir mejor sellado del MTA a las paredes dentinarias es el vibrado con ultrasonidos, una vez introducido el MTA en su cavidad retentiva [4, 15, 51]. El sonicado del MTA mediante ultrasonidos da lugar a que se formen menos poros, quede mejor adaptado a la dentina y, como consecuencia, se reduzca la filtración bacteriana [16, 51, 55].

Los ultrasonidos hacen que las partículas del MTA se dispersen dando lugar a que haya suficiente espacio para que las moléculas de agua puedan difundirse [15-17]. Esta situación ocasiona que aumente el grado de hidratación de las partículas y, como consecuencia, la dureza superficial del

MTA sea mayor [15-17]. Además, los ultrasonidos hacen que la superficie total reactiva y la interacción entre las partículas aumenten y a que el tiempo de trabajo disminuya [17].

4.2. Estética: Cambio de color MTA/diente. Causas

A pesar de utilizar el MTA blanco, existen estudios en los que se explica que éste, una vez fraguado, se oscurece, pudiendo llegar a ser negro [13, 14, 33-50, 60, 265]. Esta situación provoca la decoloración del diente y afecta a la estética final del paciente [13, 14, 33-50].

La causa del cambio de color del MTA blanco al fraguar no se conoce en la actualidad [33, 184], pero se barajan una serie de hipótesis que se describen a continuación: composición del MTA, contaminación por sangre, presencia de productos blanqueantes y preparación y mantenimiento del MTA en ambiente anaerobio.

4.2.1. Composición del MTA blanco

El MTA blanco, aunque en menos concentración que el gris, presenta óxidos de hierro y aluminio, que podrían llegar a formar aluminoferrito y, por ello a oscurecerse [39, 42, 43].

No obstante, dado que el óxido de bismuto es el compuesto exógeno que se le añade al MTA para hacerlo radiopaco, es el componente que más controversia entraña. Así, podría llegar a justificarse que Coloured ProRoot® MTA se oscureciera más que MTA Ángelus® blanco debido a su mayor contenido en óxido de bismuto [13].

Otros autores también han planteado, la posibilidad de que el cambio de color pudiera deberse a la interacción entre el óxido de bismuto y la

dentina [35] o entre el óxido de bismuto y el hipoclorito de sodio empleado para la irrigación [34].

4.2.2. Contaminación por sangre

Otra hipótesis que podría justificar el oscurecimiento del MTA blanco, particularmente en el contexto clínico, sería el hecho de que éste podría contaminarse de sangre o restos pulpares durante su fraguado. En estos casos, la sangre se oxidaría y se incorporaría al MTA provocando tanto la decoloración del diente como del cemento [41, 46].

4.2.3. Productos blanqueantes

Cuando el MTA se emplea como aislante sobre el cual colocar productos blanqueantes intradentales, como peróxido de hidrógeno, éstos podrían disminuir el pH alterando la superficie del MTA y provocando cambio de color [37]. Además, a mayor concentración de blanqueante se produciría mayor cambio de color en el MTA [37].

4.2.4. Preparación de las muestras en condiciones anaerobias

El MTA puede actuar como un material cromóforo durante las fases de preparación y fraguado, ya que es capaz de absorber luz y excitarse con ella [14]. Esta excitación podría modularse si el ambiente de preparación y fraguado de la muestra fuese aeróbico, pues el oxígeno sería capaz de desactivar dicho estado y prevenirse así la descomposición del MTA [14].

MATERIALES Y METODOLOGÍA

La descripción del material y método se realizará atendiendo a los siguientes apartados:

- A. Composición del MTA.
 - A.1. Material.
 - A.2. Metodología.
- B. Tamaño, forma y distribución de las partículas de MTA.
 - B.1. Material.
 - B.2. Metodología.
- C. Adaptación MTA-dentina.
 - C.1. Material.
 - C.2. Metodología.
- D. Cambio de color del MTA.
 - D.1. Material.
 - D.2. Metodología.

A partir de este momento nos referiremos a los 3 tipos de MTA estudiados mediante abreviaturas:

- AB: MTA Ángelus® blanco.
- AG: MTA Ángelus® gris.
- P: Coloured ProRoot® MTA.

A. COMPOSICIÓN DEL MTA

A.1. MATERIALES PARA EL ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN DEL MTA

Bloque 1: Los materiales comunes para el estudio del MTA con EDX y XPS fueron:

- AB, AG y P.
- Cucharilla para remover MTA.
- Loleta de vidrio.
- Espátula de batir cementos.
- Agua destilada.
- Espátula de composite.
- Gasas.
- Condensador Buchanan BL 35/70.
- Botes herméticos.

Bloque 2: Para el estudio de la composición empleando EDX, los materiales empleados fueron:

- Portamuestras de hierro-aluminio.
- Pegatina de papel de carbono.
- Tubos de silicona de 3mm de ancho y 3mm de alto.
- Desecador de muestras.
- Hoja de bisturí número 15.
- EDX Rontec XFlash Detector 3001 (Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Germany).
- SEM Hitachi S-3000-N (Hitachi, Ltd, Tokio, Japan).
- Programa Quantax QX2 (Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Germany).

Bloque 3: Para el estudio de la composición del MTA empleando XPS, los materiales empleados fueron:

- Aro de plástico de 1cm de diámetro y 3 mm de alto.
- Cámara de vacío.
- Electron Spectroscopy for Chemical Analysis (ESCA Probe P) (Scienta Omicron, Taunusstein, Germany).
- Programa CasaXPS (Casa Software Ltd, Devon, UK).

A.2. METODOLOGÍA PARA EL ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN DEL MTA

A.2.1. DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE LOS MTA MEDIANTE EDX

A.2.1.1. Preparación de las muestras

Los cementos empleados fueron AB, AG y P (Figura 8).

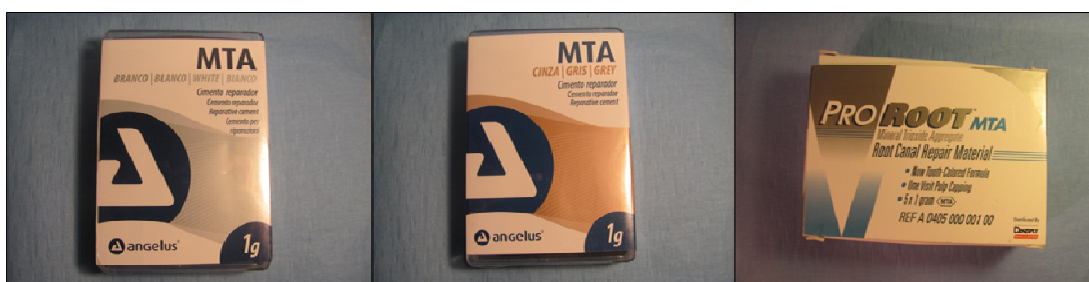


Figura 8. MTA empleados en el estudio.

Para el **estudio de la composición del polvo de MTA**, se desprecintó el bote o sobre del MTA, se abrió y se removió bien el contenido con una cucharilla. Las partículas de óxido de bismuto presentan, generalmente, un tamaño mayor que el resto de partículas, por lo que en caso de no remover

bien el contenido del polvo de MTA, podrían quedar no homogéneamente distribuidas en el bote o sobre.

En un portamuestras de hierro-aluminio se adhirió una pegatina de papel de carbono, sobre la cual se colocó el polvo del MTA. Esta acción se realizó de la misma manera para los 3 tipos de MTA a estudiar (Figura 9).



Figura 9. Preparación del polvo de los MTA para el estudio de su composición.

Para el **estudio de la composición de los MTA fraguados**, éstos se prepararon sobre una loseta de vidrio con una espátula de batir cemento. En ese preciso momento, se abrieron los sobres y botes de MTA y se siguieron las instrucciones del fabricante. Para P, el polvo se mezcló con agua destilada en una proporción de 3:1, durante, al menos 1 minuto. Para el AB y AG, se mezcló una cucharada de polvo (se usó la cuchara que viene en el kit de MTA Ángelus®) con una gota de agua destilada durante, al menos, 30 segundos (Figura 10).



Figura 10. Batido de los MTA.

Mediante una espátula de composite, se introdujo cada uno de los cementos en un tubo de silicona de 3mm de diámetro y 3mm de alto (Figura 11).



Figura 11. Tubos de silicona rellenos de MTA.

Se compactó el MTA mediante un condensador Buchanan BL 35/70 y una espátula de composite. Cada una de las siliconas con MTA, se introdujo en un bote hermético con una gasa humedecida con agua destilada. Las muestras permanecieron 28 días en los botes herméticos para completar el fraguado completo del los MTA. Posteriormente, las muestras se guardaron 15 días en un desecador para confirmar que estaban completamente deshidratadas antes de someterlas al vacío del SEM.

Transcurridos los 15 días, se cortó el molde de silicona de cada unos de los cementos mediante una hoja de bisturí y se colocaron todas las muestras sobre un portamuestras de hierro-aluminio (Figura 12).



Figura 12. Portamuestras con los MTA fraguados.

A.2.1.2. EDX+SEM para el estudio la composición del polvo de MTA y MTA fraguado

La fase que se describe a continuación se llevó a cabo en el laboratorio de Medida Avanzada por Imagen de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Educación a Distancia (UNED) de Madrid.

Tras unas pruebas se observó que no era necesario metalizar ni las muestras de polvo ni las de MTA fraguado, pues se observó que no se cargaban eléctricamente al someterlas al haz de electrones del SEM. Además con ello se evitó enmascarar los resultados de la composición.

El EDX se acopló al SEM y ambos se unieron a un ordenador, que controlaba la adquisición de los datos y las imágenes mediante el programa Quantax QX2 (Figura 13).



Figura 13. EDX acoplado al SEM.

Los parámetros de ajuste del EDX-SEM fueron los siguientes: 200 aumentos, tiempo de integración de 1 minuto, rango de energías 0-20eV (con el fin de discernir entre bismuto y tecnecio), intensidad 5,6kcps y distancia de trabajo 15mm.

Para el polvo de cada uno de los MTA se realizaron 3 mediciones en días diferentes de 3 botes/sobres distintos (Tabla 3). Cada día y de cada muestra se tomaron 5 medidas en puntos diferentes de la superficie. A continuación se expone la distribución de los lotes y sobres/botes de MTA empleados en el estudio para cada día:

Polvo	día 1	día 2	día 3
AB	17585 Caducidad 02/2016	20428 Caducidad 01/2017	17585 Caducidad 02/2016
AG	16689 * Caducidad 11/2015	16689 ** Caducidad 11/2015	16689 *** Caducidad 11/2015
P	10003597 * Caducidad 09/2013	10003597 ** Caducidad 09/2013	10003597 *** Caducidad 09/2013

Tabla 3. Distribución de los lotes de polvo de MTA y su fecha de caducidad para el estudio con EDX.

Véase que la numeración de los sobres/botes de P y AG fue la misma para los 3 días de estudio (se indican con asteriscos que, aún teniendo el mismo número de lote, son sobre distintos), sin embargo, los de AB pertenecieron a 3 lotes diferentes.

Para los MTA fraguados, se realizaron 2 mediciones en días diferentes de 2 botes/sobres distintos (Tabla 4). El primer día se llevó a cabo sólo una medida en cada muestra. El segundo día, se realizaron 5 medidas en diferentes puntos de la muestra de forma similar a las medidas de las muestras de polvo.

	día 1	día 2
AB	20428 Caducidad 01/2017	17585 Caducidad 02/2016
AG	16689 ** Caducidad 11/2015	16689 ** Caducidad 11/2015
P	10003597 ** Caducidad 09/2013	10003597 ** Caducidad 09/2013

Tabla 4. Distribución de los lotes y sobres/botes de MTA fraguado para el estudio con EDX.

Véase que se utilizó el mismo polvo de MTA el día 2 de análisis de polvo y el día 1 de cemento fraguado para todos los cementos. Igualmente, se utilizó el mismo polvo de cemento el día 3 de análisis de polvo y el día 2 de cemento fraguado para todos los cementos.

De cada muestra, ya fuese de polvo o de MTA fraguado, se localizaron con el EDX los elementos químicos presentes y se eliminó el fondo causado por la radiación de frenado en todos los casos con el algoritmo por defecto del software del programa Quantax QX2. De esta manera, se obtuvo un espectro, a partir del cual se calcularon los porcentajes en peso de cada uno de los elementos presentes en cada muestra y sus desviaciones estándar.

A.2.1.3. Análisis estadístico

Se calculó la t-Student para estudiar las posibles diferencias entre:

- Los lotes polvo de MTA.
- Las composiciones de los polvos de MTA.
- Las posibles diferencias entre cada MTA polvo que, a su vez, coincidió con su MTA fraguado correspondiente.

A.2.2. DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE LOS MTA MEDIANTE XPS

A.2.2.1. Preparación de las muestras

Los lotes empleados para el estudio del polvo y del MTA fraguado fueron los mismos:

- AB: 16540 ** caducidad 10/2015.
- AG: 17585 caducidad 02/2016.
- P: 10003597 ** caducidad 09/2013.

Para **el estudio de la composición del polvo de MTA** se formaron pastillas cilíndricas de cada uno de los polvos de MTA de 22mm de diámetro y 5mm de alto.

Al operar el XPS en ultra alto vacío, cualquier desgasificación de la muestra impide la medida. Por ello, fue necesario desecar las pastillas antes de introducirlas en el XPS.

Para **el estudio de la composición del MTA fraguado**, se preparó una muestra de cada uno de los tipos de MTA siguiendo la misma metodología que en el apartado A.2.1.1 de “Determinación de la composición de los MTA mediante EDX”. Cada uno de los MTA se introdujo en un aro de plástico de 1cm de diámetro y 3mm de alto y se introdujeron en botes herméticos con gasas húmedas. Durante los 28 días siguientes, se mantuvo la humedad de las gasas para que se completara el fraguado de los MTA.

Transcurridos los 28 días, las muestras de MTA fraguadas se trituraron y se empastillaron, como en el apartado anterior. Nuevamente, las pastillas se introdujeron en una cámara de vacío para eliminar la humedad que pudiera quedar en el MTA fraguado antes de introducirlas en el XPS.

A.2.2.2. XPS para el estudio de la composición de MTA polvo y fraguado

La fase que se describe a continuación se llevó a cabo en el laboratorio de Química en Superficies de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Educación Nacional a Distancia (UNED) de Madrid. Para ello se utilizó el equipo ESCA Probe P (Figura 14).

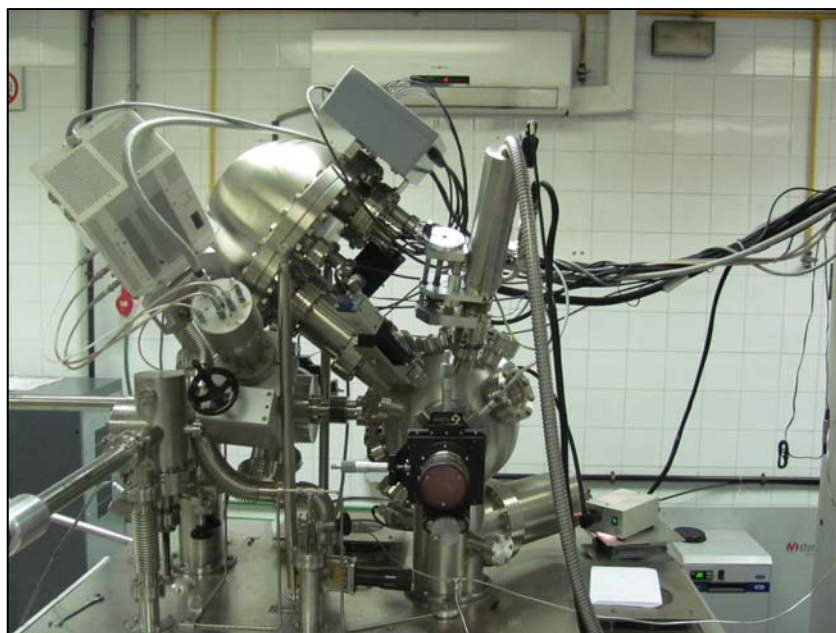


Figura 14. XPS.

Tanto para el polvo como para el MTA fraguado, se realizó la medida empleando el filamento de magnesio, cuyo rango de energía abarca hasta 1143 eV.

Los resultados de cada análisis se guardaron en archivos “.spe”, para un posterior procesamiento con el programa CasaXPS.

B. TAMAÑO, FORMA Y DISTRIBUCIÓN DE LAS PARTÍCULAS DE MTA

B.1. MATERIALES PARA EL ESTUDIO DE TAMAÑO, FORMA Y DISTRIBUCIÓN DE LAS PARTÍCULAS DE MTA

Los materiales empleados para el estudio del tamaño, forma y distribución de las partículas de MTA fueron:

- AB, AG y P.
- Cucharilla para remover MTA.
- Vial con tapón de cierre hermético.
- Alcohol etílico del 99%.
- Cubeta de ultrasonidos Ultrasonic bath Guyson Kerry (Guyson International Ltd, Skipton, UK).
- Aguja unida a una jeringa de 5 ml.
- Portamuestras para SEM.
- Papel de aluminio adhesivo.
- Metalizador Au/Pd Sputtering Polaron Range SC76290 (Quorum Technologies, Lewes, UK).
- SEM Hitachi S-3000-N (Hitachi, Ltd, Tokio, Japan).
- Programa PC_SEM (Hitachi, Ltd, Tokio, Japan).
- Programa de procesamiento de imagen FIJI (versión extendida de ImageJ).
- Ordenador con sistema operativo Windows de 32 bits y 2 GB de RAM.

B.2. METODOLOGÍA PARA EL ESTUDIO DE TAMAÑO, FORMA Y DISTRIBUCIÓN DE LAS PARTÍCULAS DE MTA

El proceso que se describe a continuación se llevó a cabo 2 veces para cada tipo de MTA y en 2 días diferentes.

B.2.1. Preparación de la suspensión de MTA

Se abrió el sobre o bote de polvo de MTA y se removió bien para distribuir homogéneamente las partículas de óxido de bismuto.

Se cogió una cucharada de polvo del MTA y se introdujo en un vial con tapón de cierre hermético. Con el fin de formar una suspensión de partículas en la que se deshiciesen los agregados, se usó etanol de alta pureza que no causa el fraguado del cemento. Para ello, se pipetearon 4 ml de alcohol etílico del 99% y se introdujeron en el vial en el que estaba el polvo del MTA. Se cerró el vial con el tapón hermético y se agitó la mezcla.

El vial con el alcohol y el MTA se depositó en una cubeta de ultrasonidos llena de agua. El vial se insonificó durante 15 minutos. Trascurrido este tiempo, se recogió el vial de la cuba de ultrasonidos y se confirmó que se había obtenido una mezcla turbia y que el polvo no había sedimentado. Se perforó el tapón del vial con una aguja unida a una jeringa de 5 ml y se aspiró el contenido del vial pasando así al interior de la jeringa (Figura 15).



Figura 15. Proceso de preparación de la suspensión de MTA.

B.2.2. Preparación del portamuestras

El portamuestras se recubrió de papel de aluminio adhesivo. Para cada muestra de MTA, el papel se cambió y se estiró evitándose así dobleces o existencia de restos de otros cementos.

Sobre el papel de aluminio adhesivo, se depositó con cuidado el contenido de la jeringa con la mezcla de MTA y alcohol etílico al 99% recién sacado del baño de ultrasonidos. Se depositó poca cantidad de la mezcla, pero sí se extendió bien sobre la superficie del portamuestras. Por último, se esperaron unos minutos a que el alcohol se evaporase por completo del portamuestras, quedando éste seco.

B.2.3. Metalizado de la muestra

Se observó que las partículas individuales expuestas al haz de electrones del SEM se cargaban eléctricamente, dando imágenes sobreexpuestas en el SEM. Para evitar esto, se recubrieron de una fina película metálica para hacer su superficie conductora y que ésta descargase hacia la superficie del papel de aluminio. Para ello, mediante el Au/Pd Sputtering Polaron Range SC76290, se metalizó el portamuestras con una aleación de oro-paladio en dos ciclos de 3 minutos (Figura 16).



Figura 16. Proceso de metalizado del portamuestras.

B.2.4. Muestreo con el SEM

El portamuestras metalizado se introdujo en el interior del SEM Hitachi S-3000-N y se hizo el vacío.

La información que recogió el SEM pudo observarse en el ordenador que tenía acoplado. El programa que se utilizó para poder obtener las imágenes obtenidas con el SEM, fue PC_SEM, que permite variar los parámetros de observación y controlar la calidad de la imagen. Los parámetros que se asignaron en este estudio fueron: barrido lento, alta resolución, tamaño de imagen 2560x1920 y escala de grises con 8 bits de profundidad.

Los aumentos a los que se tomaron las imágenes fueron (x500) y (x1500), para confirmar que se vieran las partículas más pequeñas. Debe saberse que en las imágenes de x500 el tamaño del píxel fue de 99nm, mientras que en las de x1500 el tamaño fue de 33nm.

Con el fin de muestrear partículas a lo largo de la misma zona, se comenzaron a tomar las imágenes desde un extremo del portamuestras. Primeramente, se registraron las imágenes de x500 y se retrocedió aproximadamente a lo largo de ese mismo camino tomando las imágenes de x1500.

El número de imágenes que se recogieron fue de 10 para x500 y otras 10 para x1500, guardándose siempre en formato Bit Map (BMP) de Windows (Figura 17).

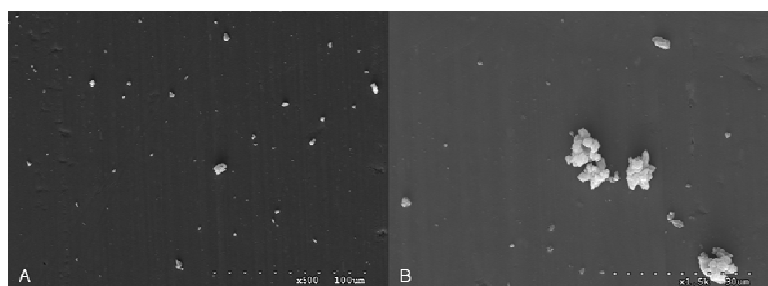


Figura 17. Imágenes de x500 (A) y x1500 (B) obtenidas mediante SEM.

B.2.5. Análisis de las imágenes

Las imágenes se trataron mediante el programa de procesamiento de imagen FIJI [278] para Windows de 32 bits.

El análisis de las imágenes se realizó siguiendo el siguiente proceso:

B.2.5.1. Abrir la imagen

En cada imagen se observaron las partículas de los MTA y la información de la propia imagen (regla y magnificación que aparecen en la zona inferior derecha). En el análisis que sigue, se excluyó la zona rectangular que contiene esta información para que no se viesan afectados los resultados de la identificación automática de partículas.

B.2.5.2. Aplicación del filtro gaussiano

Con el filtro de suavizado gaussiano se difuminaron los bordes de las partículas de cemento que aparecían en la imagen reduciendo el ruido electrónico de la imagen. El filtro elegido fue de 3x3, por lo que al actuar sobre cada pixel, se estableció su nuevo valor como una media ponderada de todos los píxeles incluidos en un radio de 1 píxel alrededor de él.

B.2.5.3. Segmentación de la imagen

La segmentación de la imagen supuso localizar los objetos contenidos en una imagen y sus límites, buscando regiones de intensidad o color similar. Para ello, se utilizó el algoritmo “Statistical Region Merging” implementado en FIJI fijando el valor del parámetro Q, que es la estimación aproximada del número de regiones de la imagen [278, 279]. A mayor valor de Q, las regiones

segmentadas aparecen más fragmentadas. En nuestro caso, tras diferentes pruebas, se tomó $Q=60$.

B.2.5.4. Ajuste del umbralizado: máxima entropía

Para identificar las partículas, se empleó un sistema de umbralizado automático, donde el valor óptimo del umbral se encuentra maximizando la entropía del histograma separado en partículas y fondo.

B.2.5.5. Erosión y dilatación de las partículas

Con el fin de separar posibles puentes entre las partículas y para eliminar aquellas partículas con diámetros menores o iguales a 4 píxeles, se aplicaron erosiones morfológicas a la imagen segmentada (dos veces para las imágenes de x500 y tres veces para las de x1500) y, posteriormente, dilataciones morfológicas (dos veces para las imágenes de x500 y tres veces para las de x1500) para recuperar el tamaño y la forma de las partículas.

Se obtuvo la imagen final, con las partículas seleccionadas para analizar y se guardaron en formato Portable Network Graphics (PNG).

A continuación, en la Figura 18, se muestra el proceso de análisis de las imágenes con un ejemplo:

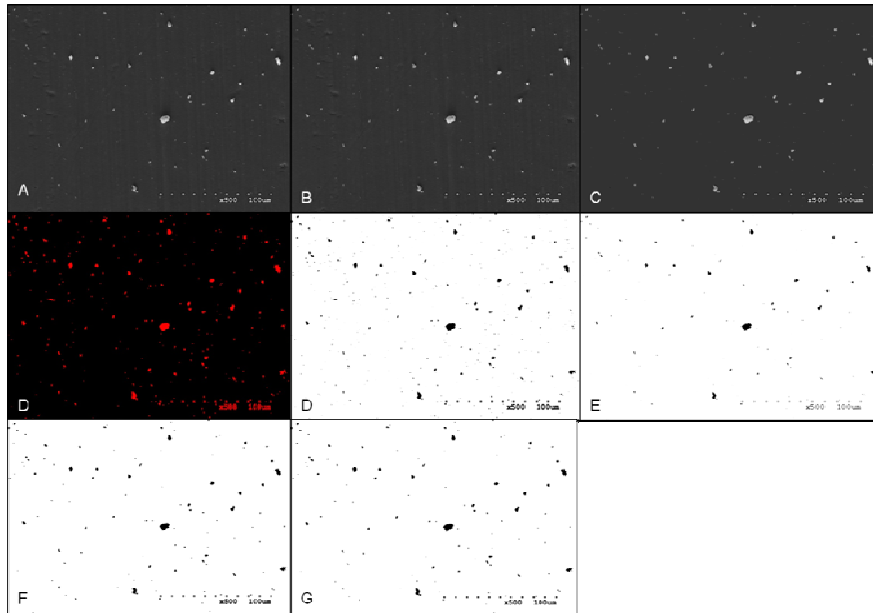


Figura 18. Ejemplo del proceso de segmentación de las Imágenes. Imagen original (A); Filtro gaussiano (B); Segmentación (C); Máxima entropía (D); Erosión (E); Dilatación (F); Final (G).

Además, en las Figuras 19 y 20, se indican las diferencias entre la imagen original y la final, tras el proceso de análisis:

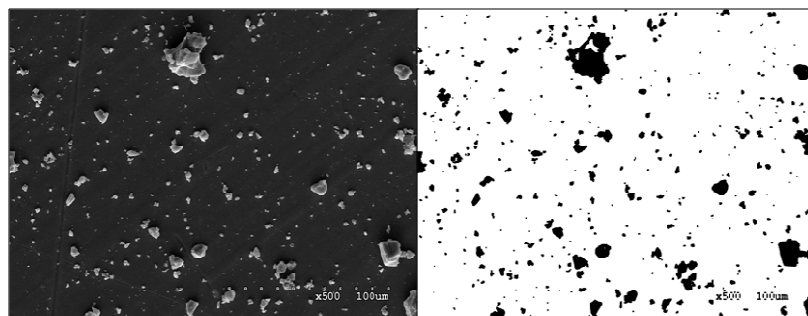


Figura 19. Ejemplo de imagen x500 tras su análisis.

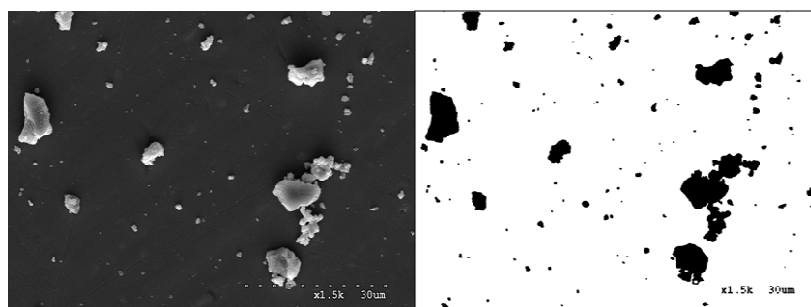


Figura 20. Ejemplo de imagen x1500 tras su análisis.

B.5.6. Análisis de la segmentación

Se revisaron las imágenes de las partículas de MTA segmentadas y se excluyeron aquellas en las que la segmentación no se realizó correctamente, tal y como se indica a continuación en la Tabla 5:

	Día 1		Día 2	
	x500	x1500	x500	x1500
AB	Correcta segmentación	Eliminación de imagen 7	Eliminación de imágenes 4,5,7	Correcta segmentación
AG	Eliminación de imagen 8	Correcta segmentación	Correcta segmentación	Correcta segmentación
P	Correcta segmentación	Eliminación de imágenes 4 y 5	Correcta segmentación	Eliminación de imágenes 8 y 9

Tabla 5. Revisión de imágenes tras la segmentación.

B.2.5.7. Análisis de las partículas

Los valores que se estudiaron de las partículas de cada imagen fueron: área, perímetro, diámetro de Feret y circularidad (round).

Aunque las partículas que aparecían en el borde de las imágenes se segmentaron, no se tuvieron en cuenta para el análisis de las partículas, pues podían estar cortadas.

Los resultados se exportaron desde FIJI y fueron guardados en formato CSV.

B.2.6. Estudio del tamaño de las partículas

El tamaño de las partículas se definió a partir de su diámetro de Feret, como la distancia entre dos tangentes a la partícula, paralelas entre sí y perpendiculares al eje de medida [101].

Se confeccionó un histograma para cada tipo de MTA, en el que se representó gráficamente la distribución de los diámetros de Feret de los 2 días y las 2 magnificaciones a las que se tomaron las imágenes.

En el eje de ordenadas se representó el número de partículas y en el de abscisas el tamaño de las partículas en escala logarítmica decimal. El motivo de utilizar la escala logarítmica fue porque había un rango muy grande de partículas y así fue más cómodo agrupar los datos. Además, es una representación habitual a la hora de calcular la distribución de tamaños de partículas en microscopía. La altura de cada barra del histograma muestra el número de partículas que se encuentran en el intervalo de diámetros de Feret que abarca la barra.

B.2.7. Estudio de la forma de las partículas

La forma de las partículas se caracterizó mediante su circularidad, como el cociente entre la circunferencia del círculo de área equivalente y el perímetro de la partícula [67, 101]. Los valores de circularidad se encontrarán entre 0-1; partículas más circulares en la imagen tendrán valores de circularidad próximos a 1 mientras que para aquéllas más elongadas o irregulares su valor de circularidad será menor [101].

Por tanto, a partir de los datos de área y perímetro aportados por el análisis de partículas de FIJI, se calculó la circularidad (c) mediante la siguiente fórmula:

$$c = \frac{2\sqrt{\pi A}}{P}$$

donde A es el área de la partícula y P la longitud de su perímetro.

B.2.7.1. Factores de los que depende la circularidad

La circularidad depende teóricamente de la forma de la partícula determinada por el programa FIJI [278, 280], pero se observó que también dependía de la magnificación con la que se habían obtenido las imágenes y con la que se analizan. Por tanto, estos dos factores introducen errores a la hora de calcular la circularidad [280]. Los salientes que puedan ser visibles en el contorno de las partículas alteran la medida del perímetro. En nuestro caso, son numerosas las partículas con contornos con picos.

Con el fin de estudiar cómo afecta el zoom empleado en el análisis de las partículas de las imágenes, se realizó un pequeño estudio para calibrar el método de medida. Se seleccionaron partículas de cada uno de los MTA de las dos magnificaciones a las que se tomaron las imágenes (x500 y x1500) y se analizó su circularidad mediante FIJI remuestreando las imágenes a tamaños del 100%, 50%, 25%, 12,5% y 6,25% (Anexo 1. Imágenes de partículas de MTA). De esta manera, al final se obtuvieron 5 zooms de cada imagen inicial, que, al representarlas presentaron diferentes distribuciones de la circularidad dependientes del zoom empleado. Se vio que existía un sesgo en la circularidad que provocaba valores más altos de circularidad en las partículas que en la imagen se observaban con un de menor tamaño.

B.2.7.2. Correcciones de los resultados de circularidad

El experimento anterior mostró que existe una dependencia aproximadamente lineal entre el “exceso de circularidad” y el logaritmo del tamaño (diámetro de Feret) de las partículas. Por ello, hubo que hacer una serie de transformaciones para hacer independiente la circularidad de las partículas de su tamaño.

La corrección de la circularidad se llevó a cabo aplicando la siguiente fórmula determinada mediante el estudio:

$$c^* = c + 0,12 \cdot \log_{10}(D/1\mu m)$$

donde c^* es la circularidad corregida, c la circularidad medida con FIJI y D el diámetro de Feret de cada partícula medido en micrómetros (se toma este tamaño como referencia).

C. ADAPTACIÓN MTA-DENTINA

C.1. MATERIALES PARA EL ESTUDIO DE LA ADAPTACIÓN MTA-DENTINA

Los materiales empleados para el estudio de la adaptación MTA-dentina fueron:

Bloque 1: Obtención de los discos de dentina y preparación de las cavidades:

- 120 dientes humanos.
- Botes herméticos.
- Formol al 40%.
- Rotulador “Staedtler Permanent M”.
- Cortadora mecánica EXAKT Cutting Unit 400C (EXAKT Advanced Technologies GmbH, Norderstedt, Germany).
- Gasas.
- Agua destilada.
- Composite utilizado fue Durafill VS A3 (Heraus-Kulzer GmbH, Hanau, Germany).
- Fresa de carburo de tungsteno “Pear Shape (amalgam) short shank” referencia ISO No. 500-314-237-001-008 de la casa Kerr (Kavo Kerr Group, Orange, EEUU).
- Hipoclorito de sodio al 2,5%.
- EDTA líquido al 17%.
- Spray de aire del equipo dental KaVo Systematica (KaVo, Biberach an der Riss, Germany).

Bloque 2: Preparación de los MTA y relleno de las cavidades:

- AB, AG, P.
- Cucharilla para remover MTA.
- Botes herméticos.
- Loseta de vidrio.
- Espátula de batir cementos.
- Espátula de composite.
- Gasas.
- Condensador Buchanan BL 35/70.
- Aplicador de MTA R.155 de la casa Ángelus.
- Condensador doble Buchanan manual de 60/120.
- Gomaespuma humedecida.
- Aparato de ultrasonidos KSK Multi Task Ultrasonic System 350/350 lux (NSK Ltd, Tokio, Japan).
- Punta de ultrasonidos NSK 750/550/560/350 (NSK Ltd, Tokio, Japan).

Bloque 3: Material para el estudio de la adaptación MTA-dentina:

- Discos de dentina obturados con el MTA.
- Microscopio óptico Axiophot (Zeiss) West Germany, con los objetivos x4, x8 y x16.
- Lámpara halógena Schott KL200 de 8V-20W.
- Cámara CCD (Photometrics Cool Snap) Qimaging Retiga Exi (Qimaging Corporation, Surrey, Canadá) con el driver QCamDriver DLL 1.91.1 (Qimaging Corporation, Surrey, Canadá).
- Ordenador Pentium 4
- Programa QCapture versión 1.91.0 (Qimaging Corporation, Surrey, Canadá).
- Portamuestras para microscopio óptico.
- Soporte de silicona.

- Programa de procesamiento de imagen FIJI (versión extendida de ImageJ).
- Esponjitas de gomaespuma.
- Papel.
- Loseta de vidrio.
- Silicona fluida Panasil® contact plus X-light de Kettenbach®.
- Espátula de batir cementos.
- Cortadora mecánica (EXACT Cutting Unit 400 C).

C.2. METODOLOGÍA PARA EL ESTUDIO DE LA ADAPTACIÓN MTA-DENTINA

C.2.1. OBTENCIÓN DE LOS DIENTES

C.2.1.1. Comité de Ensayos Clínicos

Los dientes humanos se consideran material orgánico. Por ello, se presentó el proyecto de investigación de este estudio al Comité de Ensayos Clínicos del Hospital Clínico San Carlos de Madrid (Anexo 2. Protocolo). Éste dio su aprobación para poder llevar a cabo el proyecto utilizando dientes humanos (Anexo 3. Aprobación).

C.2.1.2. Criterios de inclusión de los dientes utilizados

Se incluyeron 120 dientes humanos: 30 incisivos, 30 caninos, 30 premolares y 30 molares, con ápice cerrado y con ausencia de reabsorciones y/o caries radiculares. En el caso de dientes multirradiculares, se incluyeron únicamente premolares unirradiculares y raíces palatinas de molares superiores.

En la mayoría de las ocasiones, los dientes procedían de extracciones por causa periodontal o por necesidades ortodónticas.

C.2.1.3. Consentimiento informado

Todos los pacientes cuyos dientes formaron parte del estudio, fueron informados de ello verbalmente y firmaron el consentimiento informado por el que cedían sus dientes (Anexo 4. Consentimiento Informado).

C.2.1.4. Extracción y mantenimiento de los dientes

Los dientes recién extraídos se sumergieron en botes herméticamente cerrados en una solución acuosa de formol al 40% hasta su uso posterior.

C.2.2. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

C.2.2.1. Distribución de los dientes

Para la preparación de las muestras para cada grupo de tipo de diente (incisivos, caninos, premolares y molares) se siguió el proceso que se describe en la Figura 21:

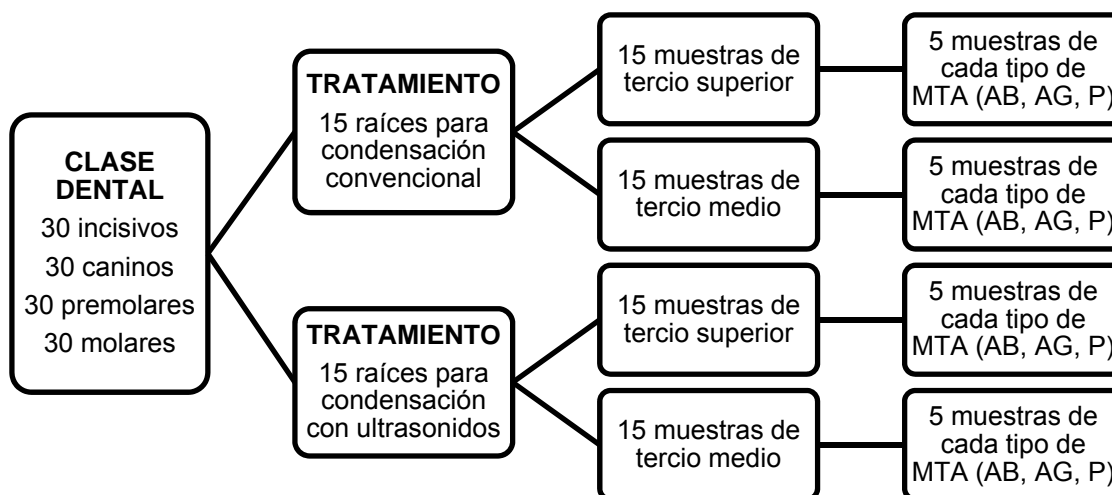


Figura 21. Distribución de los dientes para la preparación de las muestras.

Se denominó “clase dental” a cada uno de los cuatro tipos de dientes que formaron parte del estudio: incisivos, caninos, premolares y molares. Se

definió “tratamiento” a la aplicación o no de ultrasonidos como parte del método de condensación del MTA.

C.2.2.2. Obtención y mantenimiento de los discos de dentina

La fase que se describe a continuación se llevó a cabo en el laboratorio del Departamento de Odontología II (Odontología Conservadora) de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense (UCM) de Madrid.

Cada una de las raíces de los dientes seleccionados fue dividida en 3 tercios: apical, medio y coronal (Figura 22). Tras extraer los dientes conservados en una solución acuosa de formol al 40%, se secaron y marcaron 3 referencias a lo largo de la raíz con un rotulador “Staedtler Permanent M”, para que los 3 tercios, una vez cortados, fuesen del mismo tamaño. Los dientes se colocaron en una cortadora mecánica EXAKT Cutting Unit 400C. La mordaza de la cortadora se situó coronalmente a la línea amelocementaria del diente, con el fin de dejar al aire toda la raíz. Para no tener que mover la mordaza para cada corte y teniendo en cuenta las marcas realizadas, la secuencia de fragmentos a obtener fue: tercio apical, tercio medio y tercio coronal. El último corte coincidió en todos los casos en la línea amelocementaria de cada diente.

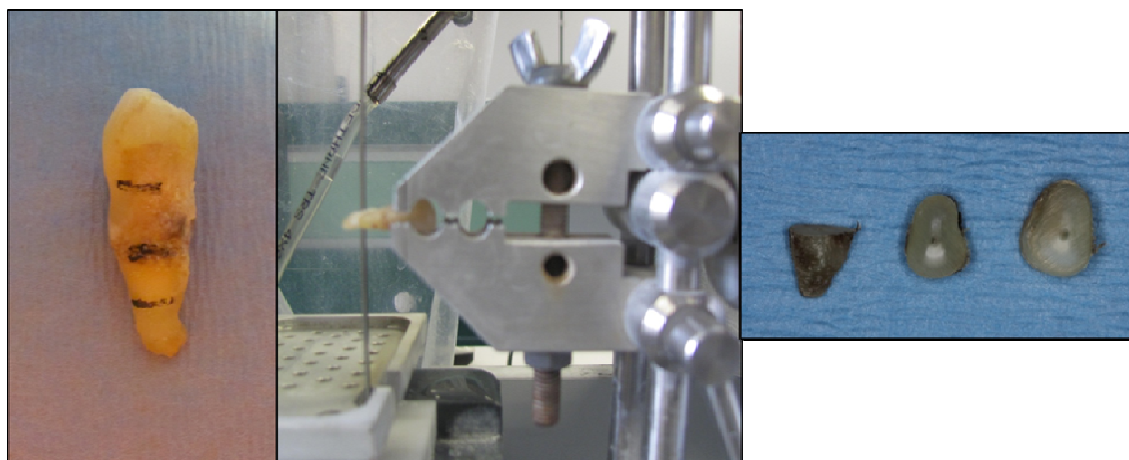


Figura 22. Obtención de los discos de dentina.

Mientras que los tercios apicales de todas las raíces seccionadas se despreciaron, los tercios medio y superior de todas las muestras se guardaron en botes individuales con cierre hermético. En el interior de cada bote se colocó el tercio medio y superior de cada raíz seccionada y una gasa húmeda con agua destilada, para garantizar la hidratación permanente de los dientes en condiciones de saturación.

C.2.2.3. Confección de moldes para los discos de dentina

Para poder manejar mejor los discos de dentina, se confeccionaron unos moldes de composite alrededor de los discos sin aplicar adhesivo. El composite utilizado fue Durafill VS A3 y se polimerizó durante 20 segundos. Los discos de dentina con sus moldes se guardaron, de nuevo, en su bote individual con la gasa húmeda, para garantizar la hidratación de los discos.

C.2.2.4. Realización de la cavidad en el disco de dentina para el MTA

En cada disco de dentina se hizo una cavidad en el conducto radicular. En el disco de dentina perteneciente al tercio superior de la raíz, la cavidad se realizó siguiendo la dirección corono-apical de la antigua raíz; en el disco de dentina perteneciente al tercio medio de la raíz, la cavidad se efectuó siguiendo la dirección ápico-coronal de la antigua raíz (Figura 23).

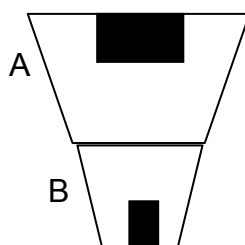


Figura 23. Localización de las cavidades en tercio medio radicular (A) y tercio apical radicular (B).

La cavidad se llevó a cabo con una fresa de carburo de tungsteno “Pear Shape (amalgam) short shank” (Figura 24). La profundidad de la cavidad fue de 2mm, ya que ésta era la longitud de la parte de activa de la fresa. En cuanto a la extensión de la cavidad, se recorrió la forma del conducto. En el caso de conductos muy estrechos, la profundidad y la extensión de la cavidad fueron las obtenidas al introducir la fresa en el conducto. Se amplió en extensión la cavidad tanto como para que el extremo de 120 del condensador Buchanan entrara correctamente hasta la parte más profunda de la cavidad.

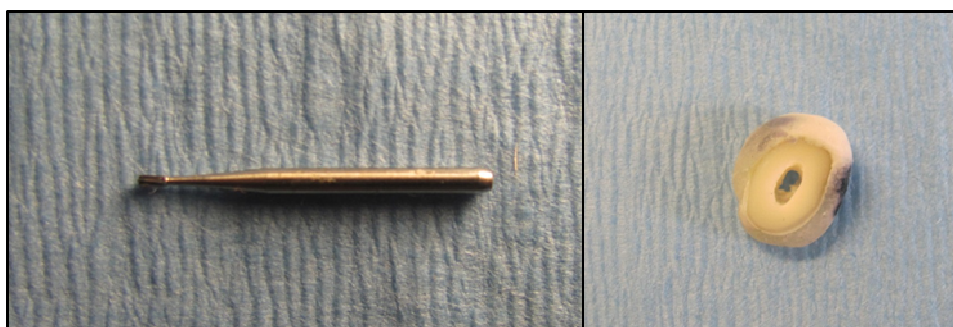


Figura 24. Proceso de preparación de la cavidad.

Una vez realizada la cavidad, se lavó el interior de la misma con hipoclorito de sodio al 2,5% durante 1 minuto. Posteriormente, se depositó en la cavidad EDTA líquido al 17% durante 3 minutos. De nuevo, volvió a lavarse la cavidad con hipoclorito de sodio al 2,5% durante 1 minuto.

Se secó el disco de dentina y el interior de la cavidad con el spray de aire del equipo dental KaVo Systematica.

C.2.2.5. Preparación del MTA

El proceso de preparación de los MTA fue similar al empleado en el apartado de A.2.1.1 de “metodología de la Composición del MTA”.

C.2.2.6. Relleno de la cavidad con MTA

Mediante un instrumento aplicador de MTA R.155 de la casa Ángelus, una vez que el cemento adquirió la consistencia deseada, se recogió la mayor cantidad de cemento posible y se depositó en el interior de la cavidad. Se compactó con ayuda de un condensador doble Buchanan manual de 60/120 hasta rellenar completamente la cavidad. Se retiraron los restos de material de la superficie de la dentina con una gomaespuma humedecida en agua destilada y no algodón, para no dejar restos de fibras sobre la superficie del cemento.

En aquellos discos de dentina en los que además de la condensación convencional se utilizaron ultrasonidos, la preparación fue similar a lo anteriormente descrito. Sin embargo, una vez rellena la cavidad con el MTA, se introdujo una punta de ultrasonidos en el cemento. Se activó el vibrado sónico 10 segundos. El aparato de ultrasonidos que se utilizó fue el KSK Multi Task Ultrasonic System 350/350 lux al que se adaptó una punta de ultrasonidos NSK 750/550/560/350. Transcurridos los 10 segundos de insonificación, se recogió el cemento rebosado sobre la superficie de la dentina y se volvió a introducir en el interior de la cavidad mediante una espátula de composite. El cemento se condensó con el condensador doble Buchanan manual de 60/120. Igualmente, se eliminaron los restos de cemento de la superficie dentinaria mediante gomaespuma humedecida con agua destilada.

C.2.2.7. Conservación de los discos de dentina con el MTA

Una vez colocado el MTA en la cavidad usando o no ultrasonidos, los discos de dentina se volvieron a colocar en el interior de sus botes individuales con las gasas húmedas, para garantizar la hidratación de los discos.

Como el MTA tarda 28 días en fraguar completamente, y siempre en presencia de humedad, se esperaron 28 días antes de continuar con el estudio, para garantizar que el MTA completase su fraguado.

Cada 7 días se confirmó que las gasas se mantenían húmedas en el interior de los botes individuales. Si era necesario, volvían a humedecerse con agua destilada.

C.2.3. MICROSCOPIO ÓPTICO

Se tomaron los discos de dentina con los 3 tipos de MTA ya fraguados del apartado C.2.2.7 de “Preparación de las muestras”.

C.2.3.1. Aparatología empleada

El microscopio óptico empleado fue el Axiophot (Zeiss) West Germany (Figura 25 A). Para la obtención de imágenes se empleó el objetivo x4 y para las inspecciones visuales también se emplearon los objetivos de x8 y x16. Las imágenes fueron guardadas en formato Tagged Image File Format (TIFF) sin compresión con 16 bits de profundidad de gris.

Para la iluminación de las muestras se utilizó una lámpara halógena Schott KL200 de 8V-20W (Figura 25 B).

Con el fin de adquirir imágenes digitales, al microscopio se acopló la cámara CCD Qimaging Retiga Exi con el driver QCamDriver DLL 1.91.1 (Figura 25 C). La cámara se conectó a un ordenador Pentium 4 con el programa QCapture versión 1.91.0, para controlar la propia cámara y guardar las imágenes.

Los parámetros de ajuste del programa QCapture que se utilizaron fueron: formato monochrome, preview depth 12 bit y capture depth 12 bit.

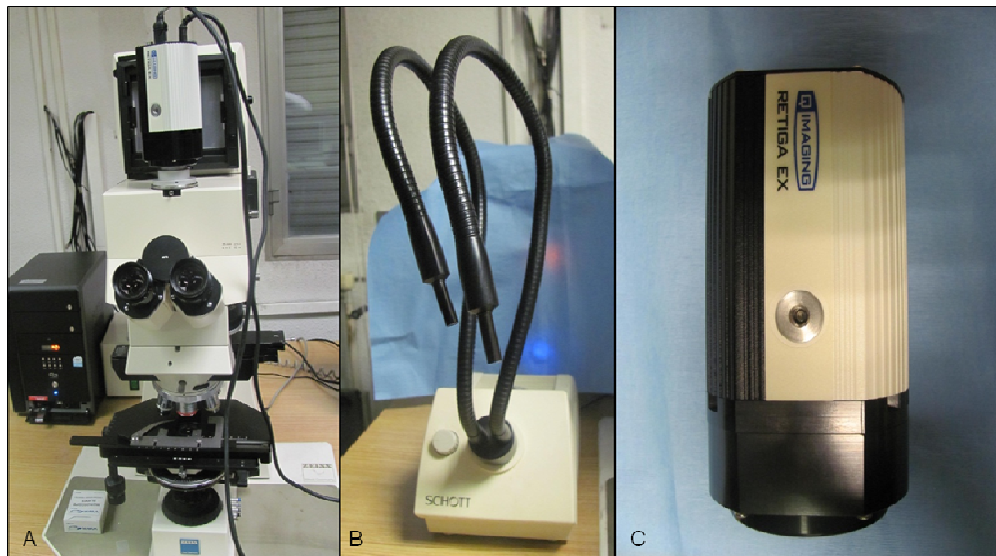


Figura 25. Microscopio óptico (A); Lámpara halógena Schott (B); Cámara CCD (C).

C.2.3.2. Obtención de imágenes de las muestras mediante el microscopio óptico

C.2.3.2.1. Colocación de las muestras en el microscopio óptico

Para iluminar las muestras, como se indica en la Figura 26, se posicionaron los dos focos de la lámpara halógena Schott a la derecha e izquierda de la muestra, para tratar de evitar la formación de sombras entre la dentina y el MTA.



Figura 26. Lámpara ajustada para iluminar las muestras.

Cada disco de dentina se sacó del bote hermético donde había permanecido los últimos 28 días. La superficie de la muestra se secó con una esponjita de gomaespuma y se situó sobre el portamuestras. Si la muestra no quedaba horizontal, se la colocaba sobre un soporte de silicona previamente confeccionado.

Para el enfoque de la muestra, primeramente se ajustó el tornillo macrométrico. Para conseguir un enfoque nítido y preciso, se ajustó el tornillo micrométrico.

C.2.3.2.2. Clasificación visual de las muestras

Las muestras se enfocaron y mediante el movimiento de la platina del microscopio, se fue recorriendo el contorno de MTA-dentina. En caso de aparecer sombras sobre la zona de unión de MTA-dentina, se varió la incidencia de luz de la lámpara halógena Schott. De esta manera se buscó determinar si la sombra se debía a la propia iluminación de la muestra o a falta de adaptación entre MTA-dentina.

A partir de este primer barrido, las muestras se clasificaron en función de la adaptación de MTA-dentina de la siguiente manera (Figura 27):

- Buena adaptación: a lo largo del contorno MTA-dentina no se apreció ninguna zona de gap.
- Existencia de gaps: visualmente se observaba separación entre la pared de dentina y el MTA. Se veía como un espacio negro.

- Cemento hundido respecto a la dentina: a lo largo del contorno MTA-dentina no se encontró ninguna zona de gap, pero el MTA se encontraba hundido por debajo de la superficie de la dentina.

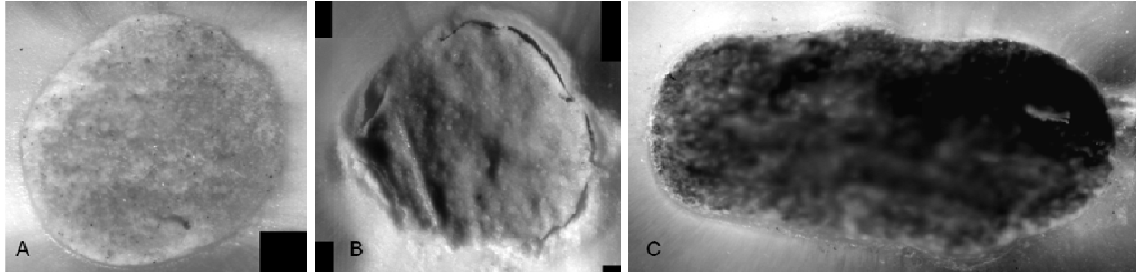


Figura 27. Ejemplos de buena adaptación (A), gap (B) y hundida (C).

C.2.3.2.3. Obtención de las imágenes mediante el microscopio óptico

A través del objetivo del microscopio óptico x4, se alcanza a ver una superficie total de, aproximadamente, $23,76 \text{ mm}^2$. Sin embargo, en la imagen que se obtiene mediante la cámara que se observa en la pantalla del ordenador, sólo se recogen $1,5 \text{ mm}^2$ de la superficie de la muestra. Esta diferencia entre las superficies que abarcan el microscopio y la cámara, condicionó la manera de obtener una única imagen de cada muestra.

El contorno de la MTA-dentina se fue recorriendo mediante el movimiento de la platina del microscopio. De cada uno de los movimientos, se tomó una imagen de 1360 píxeles de ancho y 1036 píxeles de alto, que se guardó en formato TIFF de 16 bits. Los desplazamientos entre las imágenes se condicionaron a que hubiese zonas en común entre una imagen y la consecutiva.

No se varió la iluminación de la muestra a lo largo del proceso de toma de imágenes, pero sí se enfocó cada una de ellas por separado en caso de requerirlo por el movimiento de la platina. Una vez concluida la toma de

imágenes del contorno MTA-dentina, se procedió del mismo modo a la adquisición de imágenes del interior del cemento.

C.2.3.3. Consecución de una única imagen a partir de las obtenidas mediante el programa “QCapture”

Se utilizó un script en el programa FIJI que permitía seleccionar puntos comunes en imágenes consecutivas y fusionarlas (Figura 28). Así se construyó una única imagen formada por todas las tomadas del contorno de MTA-dentina y del interior del cemento (Figura 29). De esta manera, se obtuvo la posibilidad de recorrer la totalidad de la muestra usando un programa de visualización.

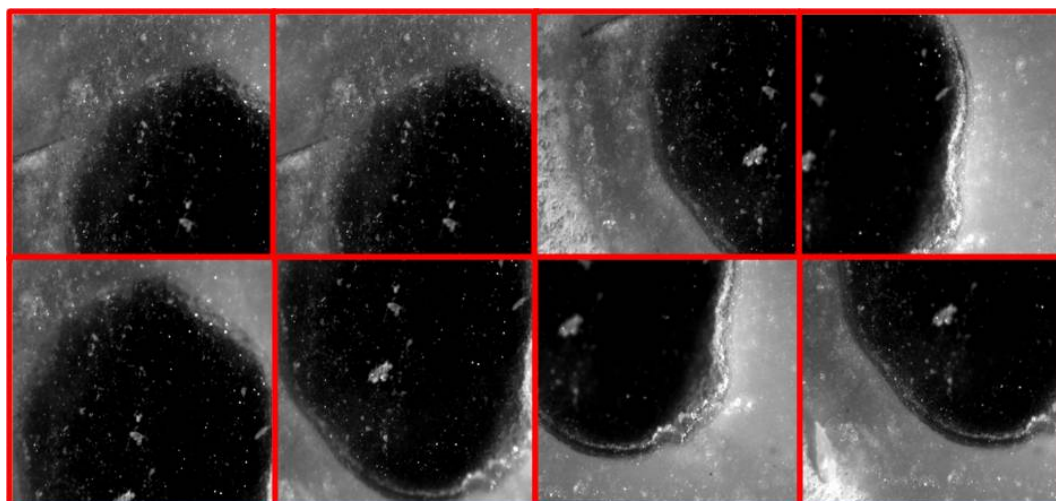


Figura 28. Imágenes tomadas de una muestra.

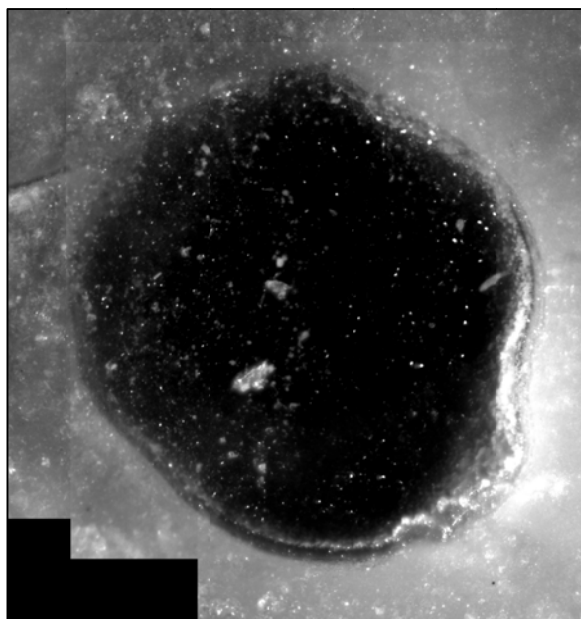


Figura 29. Imagen final una vez fusionadas todas las imágenes.

C.2.3.4. Clasificación final de las muestras

De las 240 muestras, 120 del tercio superior y 120 del tercio medio, se tomaron imágenes mediante el microscopio óptico para obtener una imagen final que poder estudiar.

A partir de lo observado con el microscopio óptico y tras el estudio de las imágenes ya montadas, las muestras se clasificaron en:

- Buena adaptación: si la adaptación entre la dentina y el MTA era correcta, sin existir gap o hundimiento del MTA.
- Con gap: si existía una zona negra de desadaptación entre el MTA y la dentina.
- Hundidas: si el MTA aparecía hundido con respecto a la dentina.

C.2.4. ESTUDIO DE LA ADAPTACIÓN EN SUPERFICIE DE LAS MUESTRAS

C.2.4.1. Confección de réplicas de silicona

Se realizaron réplicas de silicona de las muestras con gaps, de las que estaban hundidas y de algunas seleccionadas con buena adaptación (Figura 30).

Las superficies de los discos de dentina originales se secaron con esponjitas de gomaespuma.

Se hizo una perforación de tamaño similar a la de la superficie de la muestra en un fragmento de papel. El papel se colocó sobre una loseta de vidrio.

Mediante silicona fluida Panasil® contact plus X-light se rellenó la perforación realizada en el fragmento de papel. Sobre la superficie seca de la muestra se depositó una pequeña cantidad de silicona y con una espátula de batir cementos se extendió bien sobre la superficie de dentina y MTA. La muestra con la pequeña cantidad de silicona, se colocó sobre la silicona que estaba en el papel. La muestra se presionó contra la loseta de vidrio, dejando una pequeña capa de silicona entre la muestra y la loseta.

Se esperó a que fraguara la silicona. Se retiró la muestra y se comprobó si la silicona tenía alguna burbuja o se había desgarrado. Si esto hubiese sucedido, se repetiría la confección de la réplica.

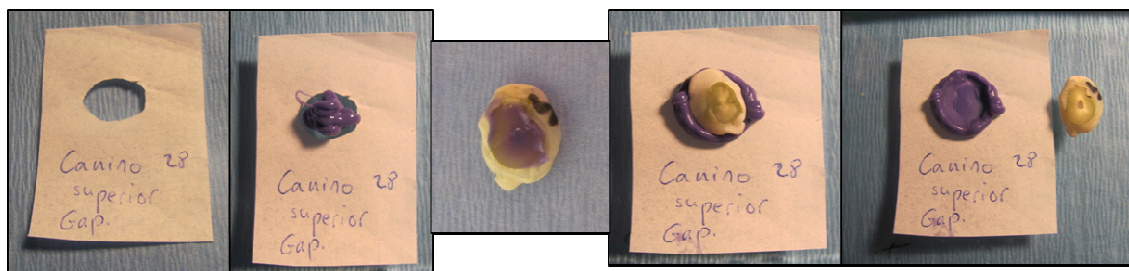


Figura 30. Proceso de confección de las réplicas.

C.2.4.2. Ajustes de iluminación de las muestras en el microscopio óptico

La réplica de silicona unida al fragmento de papel se colocó sobre el portamuestras del microscopio óptico.

En función de la iluminación que se le dio a la muestra, se tomaron dos tipos de imágenes. Llamamos imágenes de reflexión a aquéllas en las que se iluminó la muestra mediante la lámpara halógena Schott desde la derecha y la izquierda (de igual manera que se iluminaron los discos de dentina y MTA en el apartado C.2.3.2.1. de “Metodología de adaptación MTA-dentina”). Posteriormente, se tomaron imágenes utilizando sólo la fuente propia de luz del microscopio óptico, que viene de la parte inferior, y se llamaron imágenes de transiluminación (Figura 31).

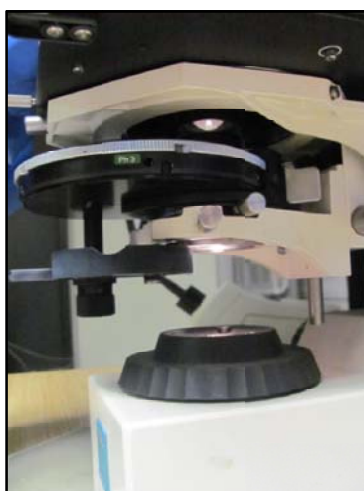


Figura 31. Iluminación para las imágenes de transiluminación.

C.2.4.3. Obtención de imágenes de reflexión y transiluminación mediante el microscopio óptico

Se siguió el mismo procedimiento que se describe en el apartado C.2.3.2.3 de “Metodología de adaptación MTA-dentina”.

C.2.4.4. Consecución de una imagen final de reflexión y transiluminación a partir de las obtenidas mediante el programa “QCapture”

Se siguió el mismo procedimiento que se describe en el apartado C.2.3.3 de “Metodología de adaptación MTA-dentina”, obteniendo las imágenes finales como las que aparecen en la Figura 32.

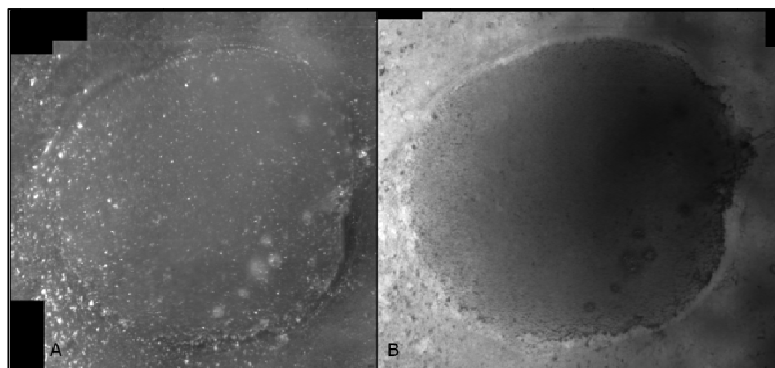


Figura 32. Imagen final de reflexión (A) y transiluminación (B).

C.2.4.5. Estudio de la imagen original, de reflexión y de transiluminación de cada una de las muestras

Se confeccionó una presentación de PowerPoint en la que en cada diapositiva se colocaron las 3 imágenes de cada muestra: imagen de la muestra original, imagen de reflexión e imagen de transiluminación.

La información que se obtuvo de la imagen original fue la de corroborar que la muestra estaba hundida, bien adaptada o presentaba gap según lo clasificado anteriormente.

Las imágenes de reflexión y transiluminación permitieron observar la réplica desde dos puntos de vista: en caso de haber gap, en la imagen de reflexión se vería una línea blanca entre la dentina y el MTA debido a la reflexión de la luz en el pliegue de la silicona que ha penetrado en el gap; en la imagen de transiluminación se vería la misma línea pero de color negro, debido a que el pliegue tiene mayor espesor óptico que el resto de la silicona que lo rodea.

C.2.4.6. Estudio de las imágenes de transiluminación

C.2.4.6.1. Muestras con buena adaptación y hundidas: cálculo del histograma MTA-dentina

Para comprobar que las muestras que se clasificaron correctamente en el apartado C.2.3.2.2 de “Metodología de adaptación MTA-dentina” como bien adaptadas y hundidas únicamente tras su observación en el microscopio óptico y el estudio de la imagen montada, se hizo un pequeño estudio utilizando las imágenes de transiluminación.

Mediante el programa FIJI se calculó el histograma del MTA y de la dentina de la imagen de transiluminación de cada una de las muestras (Figura 33).

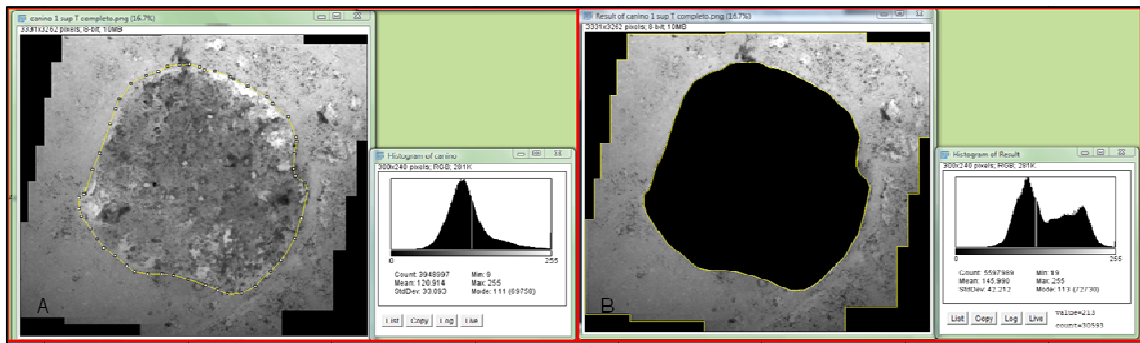


Figura 33. Histograma del MTA (A) y dentina (B).

Un histograma es una representación gráfica de la distribución estadística de los niveles de gris de una imagen. Estas distribuciones se pueden caracterizar por sus valores medios y desviación estándar (DE) en cada muestra. Estos estadísticos, posteriormente, se emplearon para analizar cuantitativamente el grado de hundimiento del MTA.

C.2.4.6.2. Muestras hundidas, muestras con gap y muestras con buena adaptación: perfil de intensidades

Para todas las muestras de las que realizaron réplicas por estar hundidas, tener buena adaptación o existir gap, se realizó el estudio del perfil de intensidades de la imagen de transiluminación de cada una de las muestras. “Plot Profile” es una herramienta del programa FIJI que muestra un gráfico en dos dimensiones de la intensidad de los píxeles a partir de una línea recta o un polígono trazado manualmente sobre la imagen. En el eje de las X se representa la distancia medida sobre la propia línea marcada sobre la imagen y en el eje de las Y se representa la intensidad de los píxeles.

La herramienta “Plot Profile” permite el estudio de la adaptación del MTA y la dentina a lo largo del contorno entre ambos. Para estudiarlo, se usó un script con el cual, tras marcar múltiples puntos a lo largo del contorno del MTA, se obtenía una imagen final de los perfiles de intensidad abarcando todo el contorno de la zona de unión del MTA-dentina (Figura 34). En la imagen final, se puede observar cómo es la unión entre la dentina y el MTA,

usando la herramienta “Plot Profile” en modo “live” con una línea horizontal que se desplaza sobre la imagen.

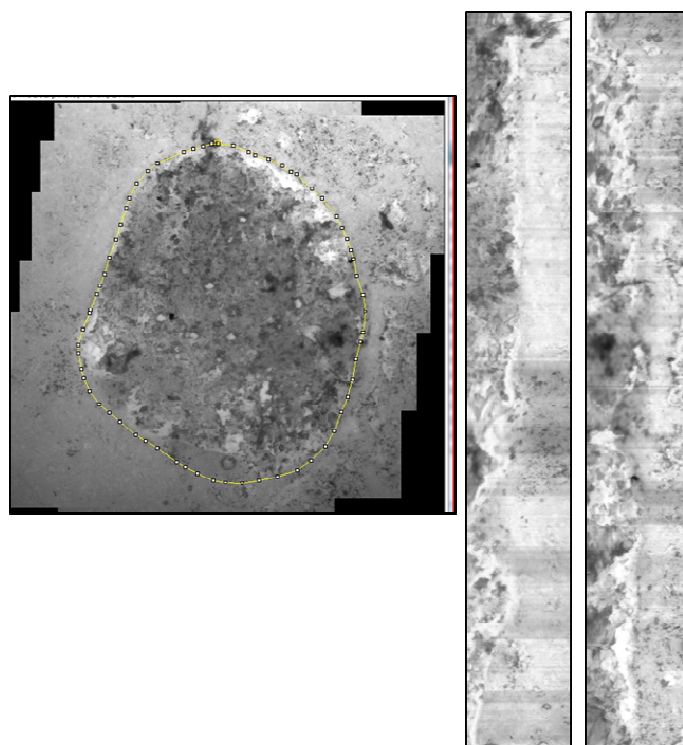


Figura 34 Plot Profile de la zona de unión MTA-dentina.

C.2.4.6.3. Muestras con gap

En las imágenes de transiluminación de las muestras con gap, se midió la extensión relativa del mismo a lo largo del contorno. Para ello se utilizó la herramienta “ángulo” del programa FIJI midiéndolo siempre a partir del centro de la imagen (Figura 35). En caso de observarse gaps en diferentes zonas del contorno, se calculó el ángulo de extensión del gap como la suma de los ángulos de las zonas.

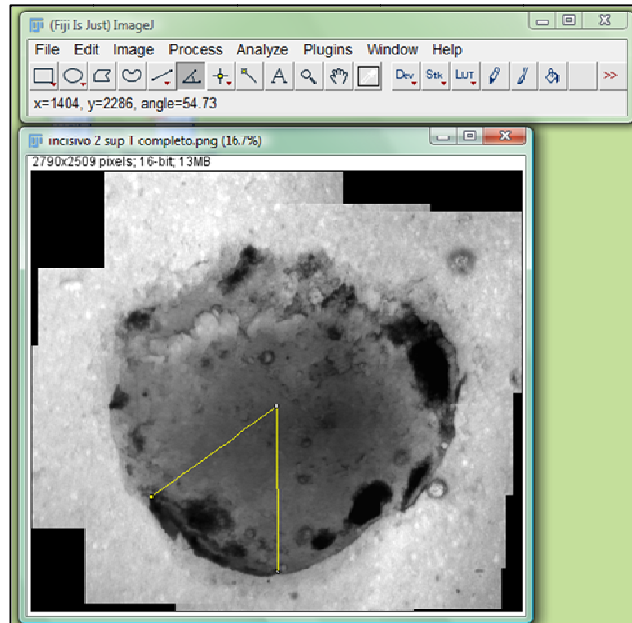


Figura 35. Cálculo del ángulo del gap.

Para poder medir la anchura de los gaps, sobre la imagen final de los perfiles de intensidad de la zona de unión del MTA-dentina y usando la herramienta “Plot Profile” del programa FIJI en modo “live”, se marcó una línea horizontal a lo ancho del gap en la zona media de la caída del nivel de gris y se midió la mayor y menor anchura del mismo empleando la herramienta “length”(Figura 36).

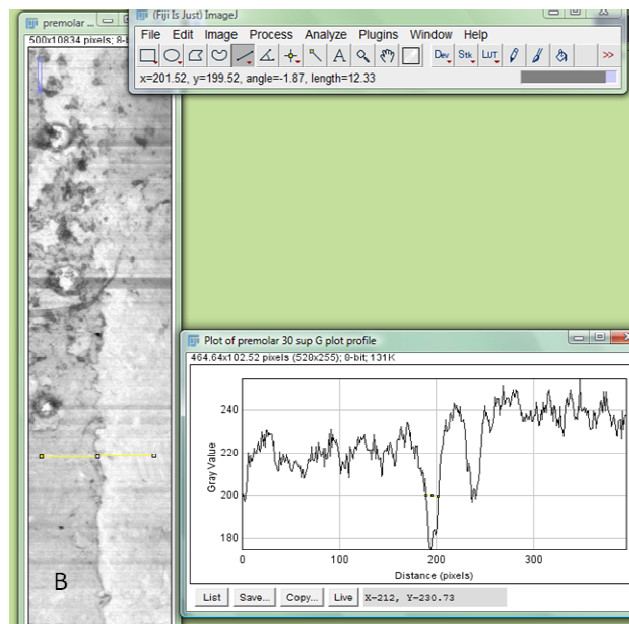


Figura 36. Cálculo de la anchura del gap.

C.2.5. ESTUDIO DE LA ADAPTACIÓN EN PROFUNDIDAD DE LAS MUESTRAS

C.2.5.1. Corte vertical de las muestras

Los discos de dentina con la cavidad rellena de MTA se cortaron verticalmente mediante una cortadora mecánica (EXACT Cutting Unit 400 C). La mordaza apretaba un extremo de la muestra y del molde de composite, para que así la cuchilla pudiera cortar aproximadamente por el centro de la dentina y el cemento. De cada muestra se obtuvieron dos fragmentos que fueron estudiados (Figura 37).

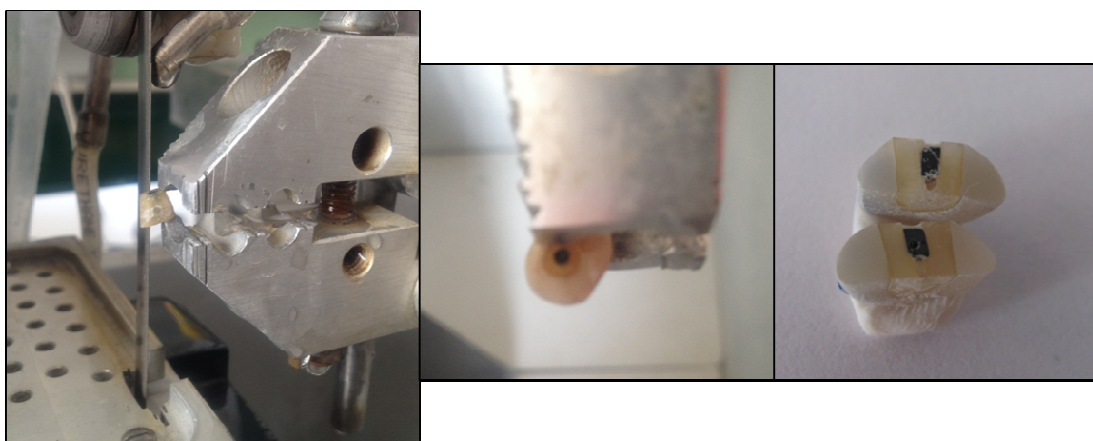


Figura 37. Corte vertical de las muestras.

C.2.5.2. Muestras cortadas de MTA-dentina

La toma de imágenes mediante el microscopio óptico y su montaje posterior fue similar al realizado en los apartados C.2.3.2 y C.2.3.3 de “Metodología de adaptación dentina-MTA”.

C.2.5.3. Obtención de imágenes de reflexión y transiluminación de las muestras cortadas

El proceso confección de réplicas, iluminación y obtención y montaje de las imágenes fue similar al llevado a cabo en el apartado C.2.4.2 y C.2.4.3 de “Metodología de adaptación dentina-MTA”.

C.2.5.4. Estudio de las imágenes original, de reflexión y transiluminación de cada una de las muestras

Se utilizó una presentación PowerPoint similar a la del apartado C.2.4.5 de “Metodología de adaptación MTA-dentina”.

Se emplearon los siguientes criterios:

- En la imagen original se buscaron posibles gaps, los cuales se verían como un espacio oscuro entre la dentina y el MTA, tal y como se había observado en la exploración microscópica de las muestras en el apartado 1.2.4 (Figura 38 A).
- Al realizar réplicas de silicona de las muestras cortadas, en caso de existir gap entre la dentina y el MTA, la silicona fluida se introduciría por la separación entre ambas estructuras. La zona de gap se observaría por igual en las imágenes de reflexión y transiluminación. En el caso de las imágenes de reflexión, el gap se vería de color blanco, pues la silicona iluminada con la lámpara halógena Schott se vería elevada (Figura 38 B). En el caso de las imágenes de transiluminación, la luz que ilumina la réplica viene de la parte inferior del microscopio; en este caso, el gap entre dentina y MTA se vería de color más oscuro que el de la silicona alrededor de él (Figura 38 C).

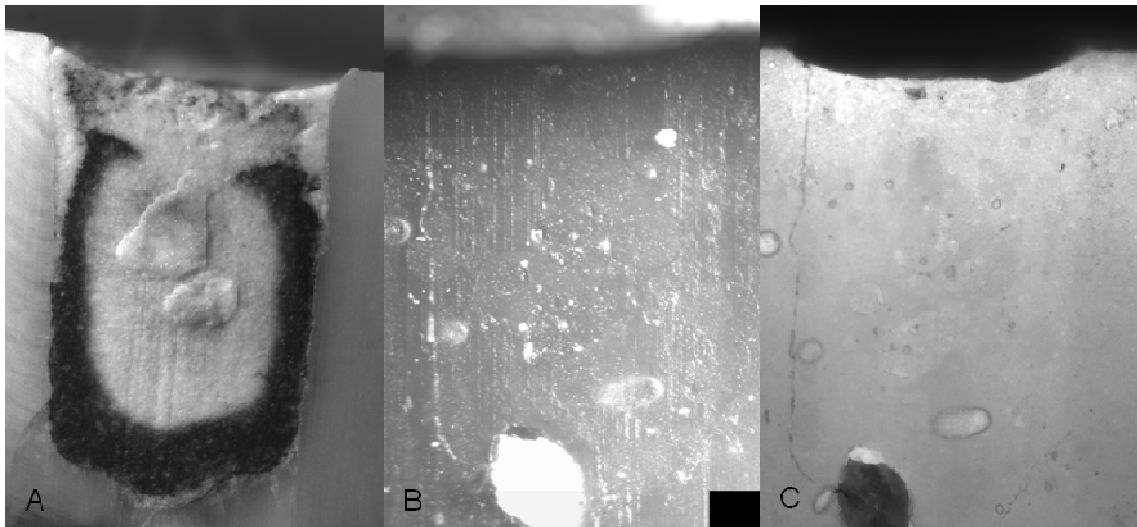


Figura 38. Ejemplo de gap en imagen original (A), de reflexión (B) y de transiluminación (C).

La información aportada por cada uno de los tipos de imagen de cada muestra, se recogió en una hoja de cálculo Excel.

C.2.5.4.1. Medida de la anchura y longitud de los gaps

La medida de la anchura de los gaps, se realizó del mismo modo que para las muestras sin cortar del apartado C.2.4.6.3 de “Metodología de adaptación MTA-dentina”. También se comprobó con la imagen de “Plot Profile”.

La longitud de los gaps se midió sobre la imagen de transiluminación colocada en el PowerPoint con una cuadrícula detrás (Figura 39). También se comprobó con en la imagen de Plot Profile que el gap coincidía en la imagen de transiluminación y en el Plot Profile. Se anotó el número de cuadrículas que abarcaba cada uno de los gaps.

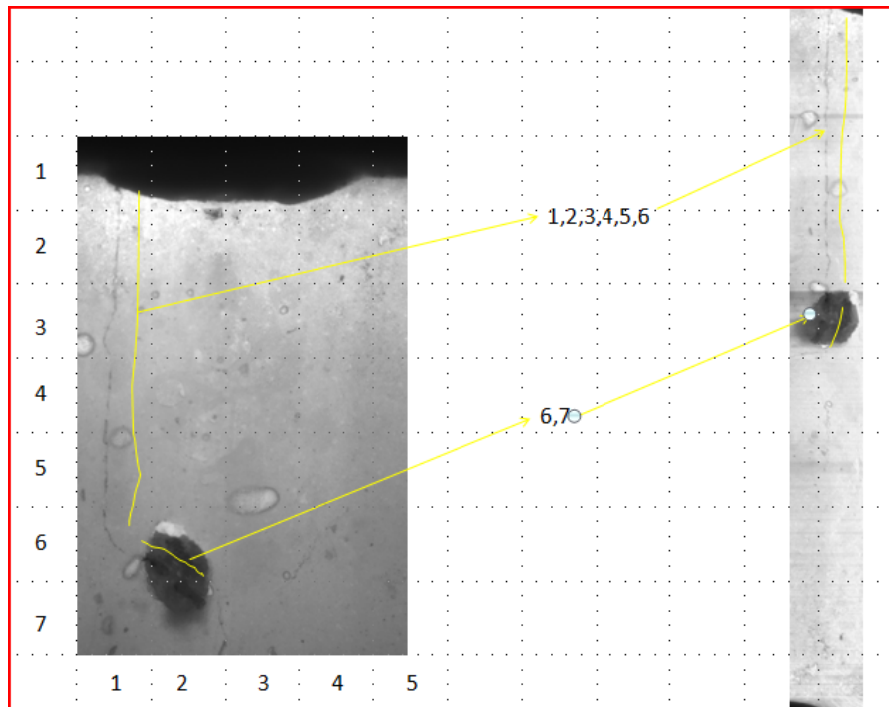


Figura 39. Medición de la longitud de los gaps en las muestras cortadas.

C.2.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las hipótesis planteadas a lo largo de todo el apartado de adaptación MTA-dentina se estudiaron mediante el test-G adecuado para datos organizados en forma de tablas de respuestas por tratamientos y para bajo número de observaciones [281]. Se siguieron una serie de pasos que se describen a continuación:

- Plantear una hipótesis de estudio: habitualmente son de independencia de las observaciones y de los tratamientos (hipótesis nulas).
- Realizar una tabla de contingencia en la que se recojan los datos referentes a las hipótesis a testar.
- Confeccionar la tabla en la que se calculen los resultados esperados bajo la hipótesis nula. Éstos se calculan, en caso de independencia, a partir de los totales marginales respecto al número total de los casos.

- Calcular el estadístico G, multiplicando el número de casos por el logaritmo del número de casos observados dividido por el número de casos esperados. El valor de G es igual a 2 veces la suma de todos los valores.
- Calcular el p-valor. Éste se obtiene sabiendo que el estadístico G está distribuido según una distribución χ^2 con los grados de libertad de la tabla confeccionada. Los grados de libertad de esta tabla se calculan como: (número de columnas -1) x (número de filas -1).
- Se determinó que el nivel de significación con el que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa, fuese del 0,05.

D. CAMBIO DE COLOR DEL MTA

D.1. MATERIALES DE CAMBIO DE COLOR DEL MTA

Los materiales empleados para el estudio del cambio de color del MTA fueron los siguientes:

- Materiales del bloque 1 de composición de MTA.
- Materiales de los bloques 1 y 2 de adaptación MTA-dentina.
- Discos de dentina obturados con MTA.
- Cámara fotográfica Canon PowerShot SX120IS.
- Trípode.
- Luz portátil orientable con una bombilla de 7W.
- Papel.
- Plastilina.
- Botes herméticos.
- Molde de silicona de 3mm de altura y 3mm de diámetro.
- Cortadora mecánica (EXACT Cutting Unit 400 C).
- Programa de procesamiento de imagen FIJI (versión extendida de ImageJ).

D.2. METODOLOGÍA DE CAMBIO DE COLOR DEL MTA

D.2.1. Toma de fotografías del color del MTA en superficie

Se tomaron los discos de dentina con los 3 tipos de MTA ya fraguados del apartado C.2.2.7 de “Adaptación MTA-dentina”.

La superficie del MTA de cada muestra a estudiar fue fotografiada con una cámara fotográfica Canon PowerShot SX120IS acoplada a un trípode. Las muestras se iluminaron con una luz portátil orientable con una bombilla de 7W (Figura 40).

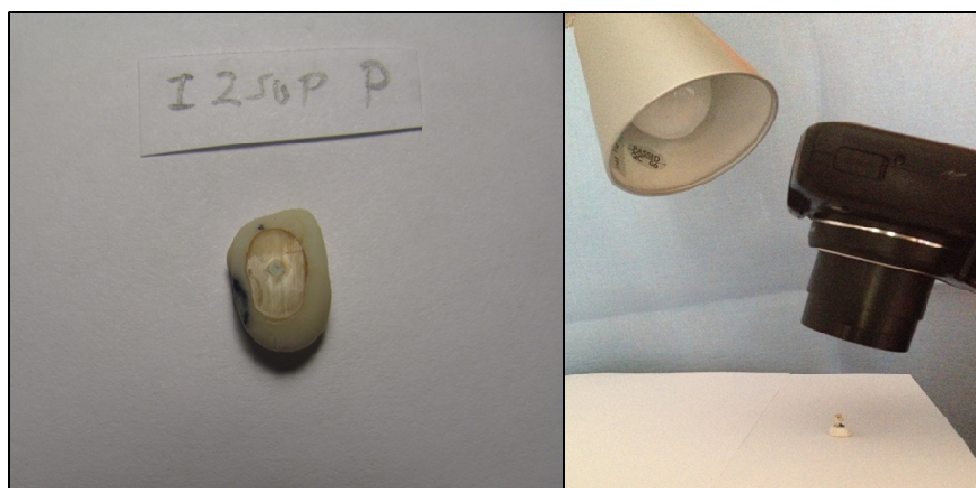


Figura 40. Preparación de las muestras para la toma de fotografías.

Las fotografías de todas las muestras se tomaron siempre a 5cm de la muestra, utilizando el programa automático de enfoque y exposición de la cámara, con el ajuste del macro de la cámara activado y sin flash.

Las muestras se colocaron sobre un fragmento de plastilina para fijarlas. La combinación muestra-plastilina se situó sobre un folio blanco que sirvió como referencia para la calibración fotométrica de las imágenes.

Una vez hechas las fotografías, las muestras volvieron a ser introducidas en sus botes herméticos con las gasas húmedas.

D.2.1.1. Toma de imágenes de MTA recién preparado

Con el fin de poder comparar el posible cambio de color entre el MTA recién mezclado y el MTA fraguado, se tomaron imágenes de los cementos recién preparados.

Para ello se confeccionó una muestra de cada uno de los tipos de MTA siguiendo siempre las indicaciones del fabricante (véase apartado A.2.1.1 de “Determinación de la composición de los MTA mediante EDX”).

En este caso, cada MTA se introdujo en un molde de silicona de 3mm de altura y 3mm de diámetro. Se esperó 4 horas a que los cementos comenzaran su fraguado con el fin de evitar que la propia humedad del cemento recién preparado pudiera afectar a la toma de color posterior.

La toma de imágenes de las muestras de MTA en los moldes de silicona se llevó a cabo siguiendo el procedimiento del apartado D.2.1 de “Metodología de cambio de color del MTA”.

D.2.2. Corte vertical de las muestras

Esta fase se corresponde a la C.2.5.1 de “Adaptación MTA-dentina”.

D.2.3. Toma de las fotografías de las muestras cortadas

Se siguió el mismo procedimiento que se describe en el apartado D.2.1 de “Metodología de cambio de color del MTA”.

D.2.4. Estudio de las imágenes de los dientes en superficie, en profundidad y del MTA recién preparado mediante el programa FIJI

El programa FIJI fue utilizado para calcular el histograma de cada muestra de MTA.

Centrándonos en la componente de intensidad, determinamos la distribución de brillo de los píxeles correspondientes al MTA en cada muestra de MTA recién preparado, diente cortado y sin cortar a estudiar. Estas distribuciones se caracterizaron por sus valores medios y de desviación estándar (DE) en cada muestra (Figura 41 A). Además del MTA, también se calcularon los histogramas de dos zonas del papel blanco de fondo seleccionadas simétricamente respecto al MTA, que se utilizarán como blanco de referencia Figuras 41 B y C).

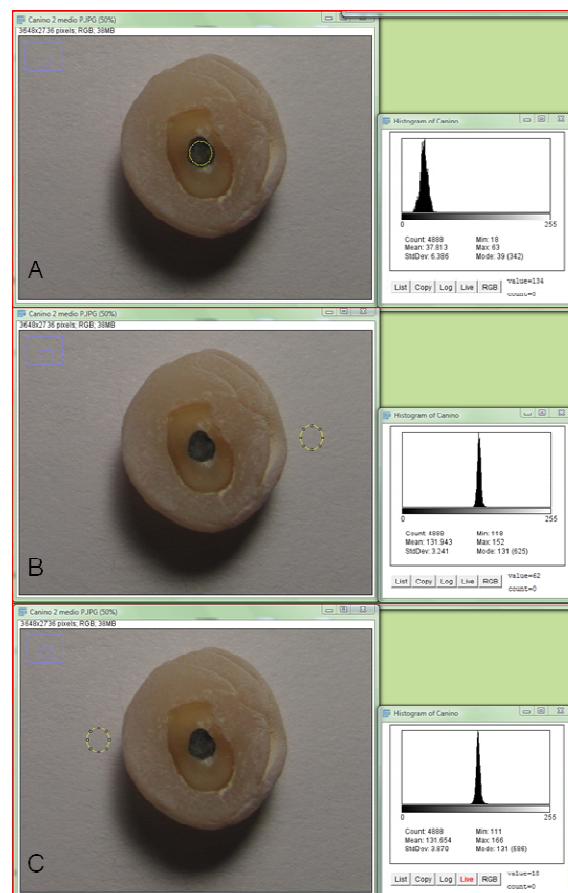


Figura 41. Histogramas de color del MTA (A), papel de la izquierda (B),papel de la derecha (C).

A partir de los niveles medios de brillo del MTA y de las dos zonas del papel, se pudo calcular la reflectividad media del MTA en cada muestra definida como la fracción de radiación incidente que es reflejada por una superficie. La reflectividad varía en el intervalo 0-1, siendo 0 el valor negro y 1 el valor blanco.

En nuestro caso, dado que el fondo de todas las imágenes era un folio blanco muy próximo a un reflector ideal lambertiano (reflectividad 1), se asumió que el fondo siempre es un color estable y lo que varía en cada una de las fotografías es el color del MTA.

D.2.5. Dendrogramas de las muestras sin cortar

Un dendrograma es un tipo de representación gráfica en forma de árbol que organiza los datos por su similitud en subcategorías que se van dividiendo en otros hasta llegar al nivel de detalle deseado [282]. Este tipo de representación permite apreciar claramente las relaciones de agrupación entre los datos e incluso entre grupos de ellos. Observando las sucesivas subdivisiones podemos hacernos una idea sobre los criterios de agrupación de los mismos y la distancia entre los datos según las relaciones establecidas, ya que los elementos dentro de cada rama del dendrograma tienen diferencias entre ellos menores que con los elementos de otras ramas.

Para identificar los grupos de reflectividad más representativos de la muestra, se confeccionó un dendrograma. En el eje de las X se colocaron las muestras que forman parte del estudio y en el eje de las Y el valor absoluto de la diferencia de reflectividades entre los grupos que se dividen a esa altura del árbol. Se decidió cortar en el eje de las Y en 0,22 con el fin de obtener 5 categorías de color.

Las 5 categorías de color encontradas de este modo se dividen en:

- Reflectividades menores a 0,22: muestras de color negro.
- Reflectividades entre 0,23-0,365: muestras de color gris oscuro.
- Reflectividades entre 0,37-0,57: muestras de color gris.
- Reflectividades entre 0,575-0,69: muestras de color gris claro.
- Reflectividades entre 0,7-0,838: muestras de color claro.

D.2.6. Clasificación de la textura del color del MTA en las muestras cortadas

Las muestras cortadas presentaron una distribución espacial de color del MTA dentro de la cavidad que los histogramas no pueden caracterizar.

Para diferenciar los distintos comportamientos observados en el MTA en referencia a su textura en el interior de la cavidad, se confeccionó una clasificación a la que se adscribió cada muestra cortada según criterios visuales (Figura 42). Los tipos de textura del MTA se definieron como se indica a continuación:

- 1 color: El MTA era de un único color.
- 2 colores: existían 2 colores en el MTA paralelos al fondo de la cavidad.
- 3 colores: había 3 colores en el MTA paralelos al fondo de la cavidad.
- 4 colores: aparecían 4 colores en el MTA paralelos al fondo de la cavidad
- Mármol: aspecto jaspeado del MTA con dos colores, uno más oscuro y otro más claro.

- Palmera: fondo oscuro del MTA y un acceso más claro que aparecía desde el fondo de la cavidad y ascendía sin llegar a la superficie.
- Concéntrico: había un color en el MTA cercano a las paredes de la dentina que difería del color central.

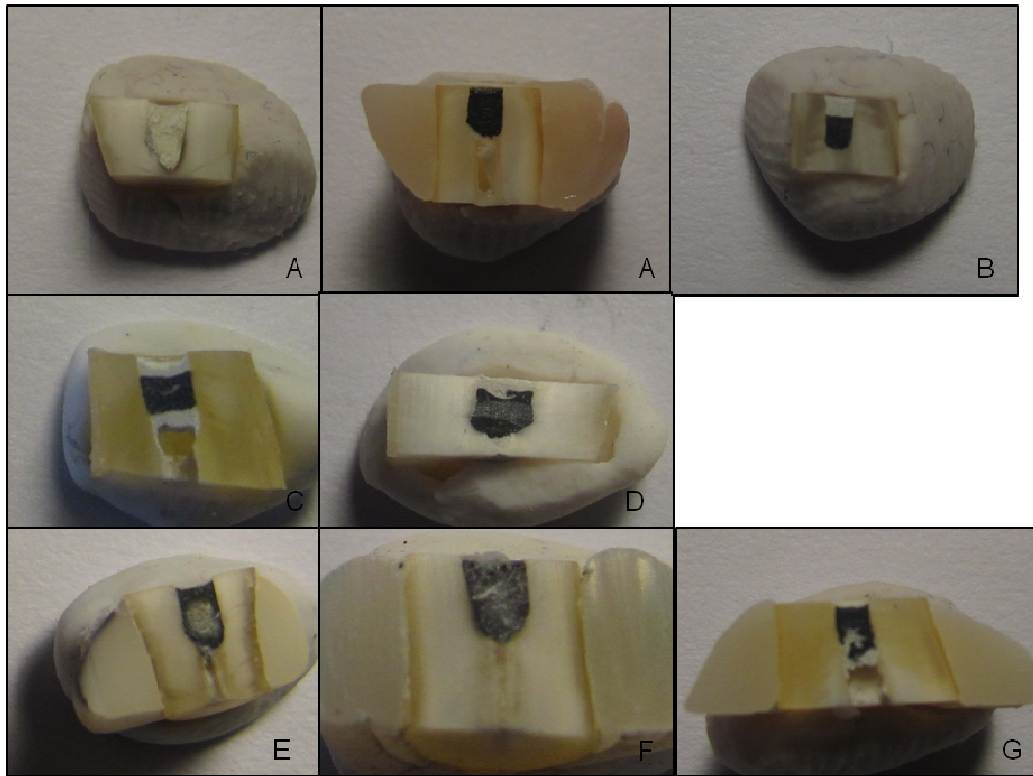


Figura 42. Texturas adoptadas por el MTA
Un color (A); 2 colores (B); 3 colores (C); 4 colores D); Concéntrico (E);
Mármol (F); Palmera (G).

D.2.7. Análisis estadístico

Las hipótesis planteadas para el cambio de color de los dientes cortados y sin cortar se estudiaron mediante el test-G adecuado para datos organizados en forma de tablas de respuestas por tratamientos y para bajo número de observaciones [281]. Se siguieron una serie de pasos que se describen en el apartado C.2.6 de “Metodología de la adaptación MTA-dentina”.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados y la discusión de los mismos se realizará atendiendo a los siguientes apartados:

- A. Composición del MTA.
 - A.1. Resultados.
 - A.2. Discusión de los resultados.
- B. Tamaño, forma y distribución de las partículas de MTA.
 - B.1. Resultados.
 - B.2. Discusión de los resultados.
- C. Adaptación MTA-dentina.
 - C.1. Resultados.
 - C.2. Discusión de los resultados.
- D. Cambio de color del MTA.
 - D.1. Resultados.
 - D.2. Discusión de los resultados.

A. COMPOSICIÓN DEL MTA

A.1. RESULTADOS

A.1.1. DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE LOS MTA MEDIANTE EDX

A.1.1.1. Resultados de la composición del polvo de MTA con EDX

Los resultados en porcentaje en peso y su desviación estándar (DE) que se obtuvieron para cada elemento de los polvos de MTA cada día, aparecen seguidamente en la Tabla 6:

		AB polvo		AG polvo		P polvo	
		media	DE	media	DE	Media	DE
Al	Día 1	1,11	0,16	1,09	0,2	0,69	0,08
	Día 2	2,01	0,13	1,57	0,09	0,72	0,10
	Día 3	1,48	0,3	1,49	0,04	0,9	0,05
	Media	1,53	0,42	1,42	0,43	0,82	0,12
Bi	Día 1	4,99	0,89	5,93	0,37	8,42	0,83
	Día 2	7,3	1,06	7,5	0,94	9,12	0,38
	Día 3	7,06	0,6	8,58	0,63	10,38	0,33
	Media	6,45	1,35	7,81	3,41	9,61	1,08
Ca	Día 1	34,67	2,99	29,98	0,95	31,26	0,91
	Día 2	36,07	3,32	29,74	1,47	30,35	0,87
	Día 3	37,98	3,29	29,10	0,77	29,63	0,61
	Media	36,24	3,47	30,60	7,66	31,19	2,52
O	Día 1	54,34	4,09	55,36	0,9	53,87	1,06
	Día 2	48,74	4,35	53,36	0,51	53,80	0,51
	Día 3	47,57	4,19	52,68	0,09	52,93	0,22
	Media	50,22	5,16	52,08	3,38	52,47	2,93
Si	Día 1	4,89	0,76	3,93	0,42	5	0,59
	Día 2	5,88	0,41	4,54	0,29	5,21	0,51
	Día 3	5,57	0,62	4,66	0,16	5,63	0,16
	Media	5,45	0,74	4,52	1,26	5,28	0,48
Fe	Día 1			1,37	0,29	0,42	0,03
	Día 2			0,81	0,03	0,50	0,14
	Día 3			1,06	0,04		
	Media			1,23	0,82	0,21	0,17
Mg	Día 1			1,85	0,32	0,34	0,08
	Día 2			2,48	0,23	0,31	0,09
	Día 3	0,34	0,07	2,43	0,3	0,52	0,07
	Media			2,18	0,37	0,42	0,11

Tabla 6. Medias y DE del porcentaje en peso de los 5 puntos de la muestra de polvo analizados cada día y agrupados para todos los días con EDX.

A.1.1.2. Resultados de composición del MTA fraguado con EDX

Los resultados en porcentaje en peso y DE que se obtuvieron para cada elemento de los MTA fraguados cada día, se muestran a continuación en la Tabla 7:

		AB fraguado		AG fraguado		P fraguado	
		media	DE	media	DE	media	DE
Al	Día 1	2,42		2,14	0,03	1,25	
	Día 2	2,4	0,52	0,98	0,32	1,12	0,08
	Media	2,41		1,56	0,23	1,18	
Bi	Día 1	2,94		8,48	0,17	2,79	
	Día 2	5,97	1,8	6,42	1,76	8,05	0,59
	Media	4,46		7,45	1,25	5,42	
Ca	Día 1	30,97		37,66	0,04	30,5	
	Día 2	29,58	3,76	28,29	4,71	29,71	0,48
	Media	30,28		32,97	3,33	30,10	
O	Día 1	60,11		43,02	0,83	63,27	
	Día 2	57,27	5,85	60,03	6,11	56,08	0,81
	Media	58,69		51,52	4,36	59,67	
Si	Día 1	3,56		5,79	0,23	2,19	
	Día 2	4,42	0,79	2,3	0,78	4,68	0,26
	Media	3,99		4,04	0,58	3,43	
Fe	Día 1			1,31	0,13		
	Día 2			0,74	0,12	0,21	0,05
	Media			1,02	0,13		
Mg	Día 1			1,6	0,03		
	Día 2			1,23	0,46		
	Media			1,41	0,33		

Tabla 7. Medias en ambos días y DE del porcentaje en peso de los 5 puntos de segundo día de las muestras fraguadas analizadas y agrupadas para todos los días con EDX.

A.1.1.3. Combinación de resultados del MTA polvo y fraguado con EDX

Seguidamente se muestran gráficamente los resultados porcentuales obtenidos mediante el EDX para el polvo y para el MTA fraguado para los elementos encontrados en mayor concentración (Tablas 43-49):

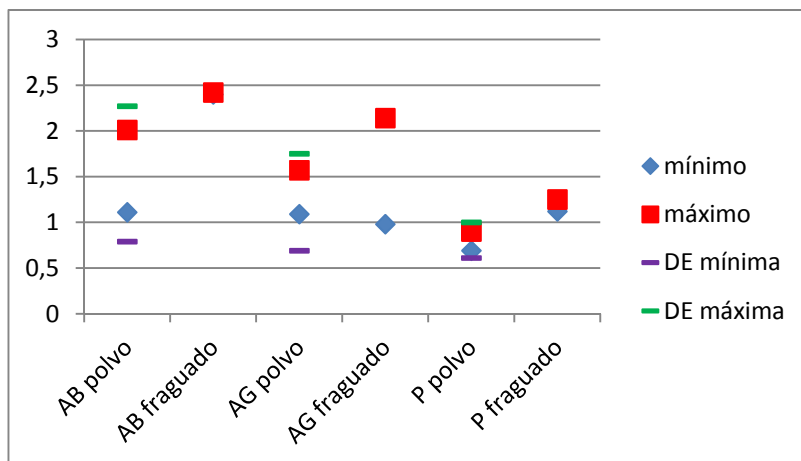


Figura 43. Resultados combinados de MTA polvo y fraguado para el aluminio.

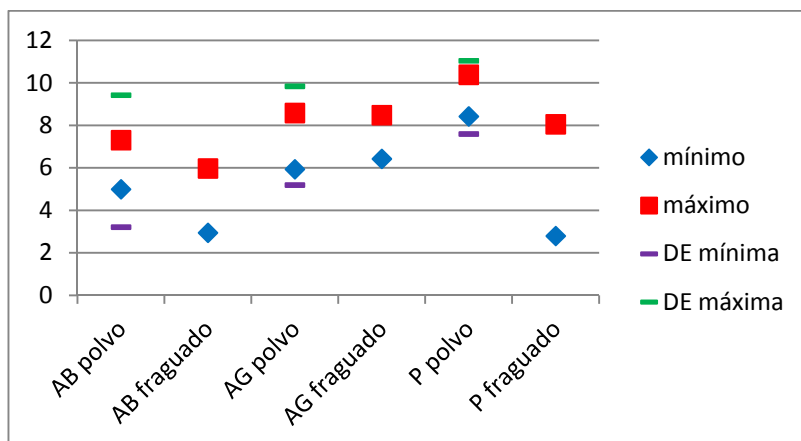


Figura 44. Resultados combinados de MTA polvo y fraguado para el bismuto.

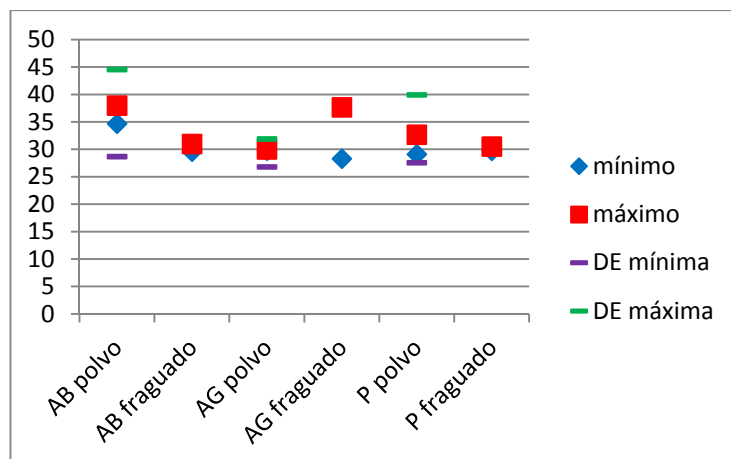


Figura 45. Resultados combinados de MTA polvo y fraguado para el calcio.

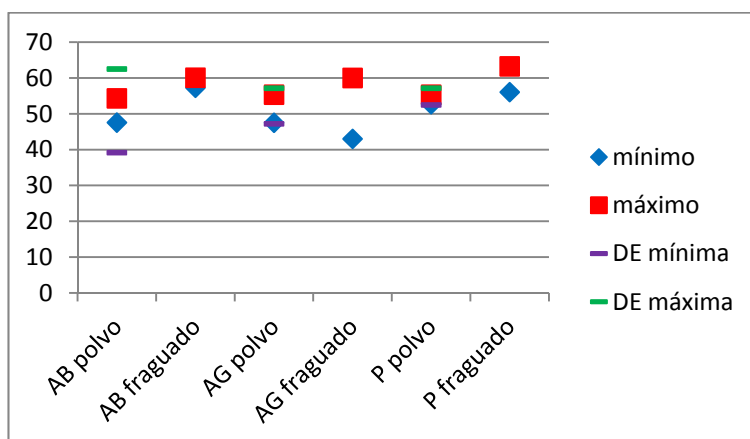


Figura 46. Resultados combinados de MTA polvo y fraguado para el oxígeno.

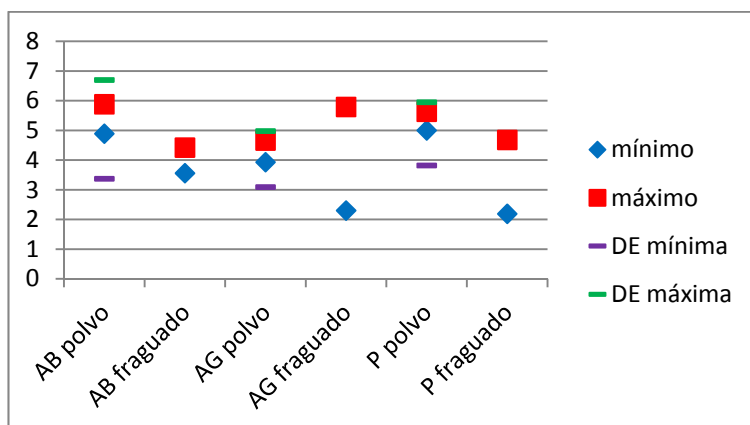


Figura 47. Resultados combinados de MTA polvo y fraguado para el silicio.

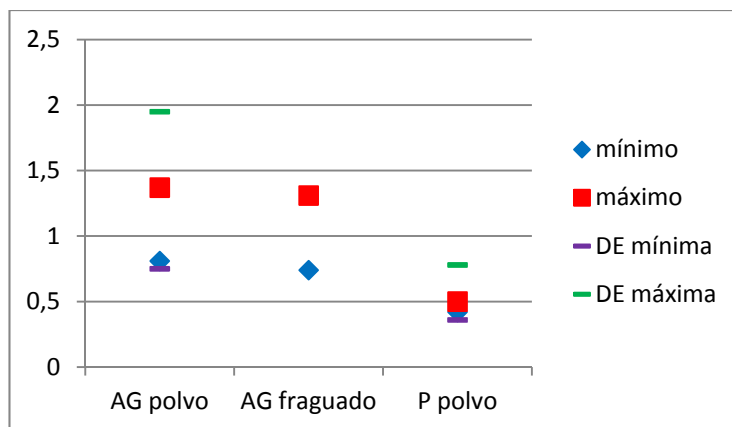


Figura 48. Resultados combinados de MTA polvo y fraguado para el hierro.

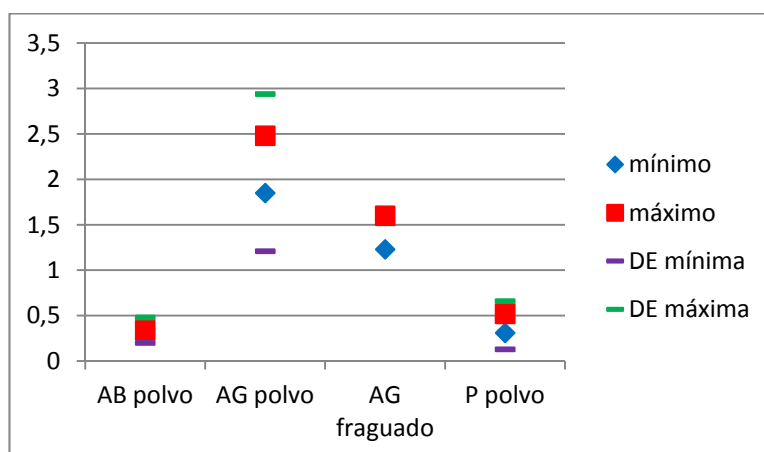


Figura 49. Resultados combinados de MTA polvo y fraguado para el magnesio.

A.1.1.4. Comparación entre los diferentes lotes de MTA polvo

Para estudiar las diferencias entre los lotes de polvo de cada uno de los tipos de MTA se calculó la t de Student del test de diferencia de las medias. Para ello se estableció la significación en 0,05 y se calcularon los grados de libertad, que fueron 28 (15 muestras de cada MTA + 15 muestras de cada MTA -2= 28). Al revisar la tabla de t Student de la distribución estadística, se obtuvo el valor de corte en 1,7, por lo que todos aquellos resultados que estuviesen por encima de dicha cifra, supondrán la existencia de diferencia significativa entre los lotes.

A continuación se muestran para cada polvo de MTA las medias de cada uno de los elementos para cada día que se tomaron las muestras y su DE. También se incluyen las diferencias obtenidas para cada elemento comparando los días (Tablas 8-13):

	Lote 17585		Lote 20428		Lote 17585		día 1 y 2	día 1 y 3	día 2 y 3
	medias día 1	DE día 1	medias día 2	DE día 2	medias día 3	DE día 3			
Al	1,11	0,16	2,01	0,13	1,48	0,3	95,29	5,92	13,14
Bi	4,99	0,89	7,3	1,06	7,06	0,59	13,93	18,79	0,20
Ca	34,67	2,99	36,07	3,32	37,98	3,27	0,49	2,79	0,84
O	54,34	4,09	48,74	4,35	47,58	4,24	4,40	6,58	0,18
Si	4,89	0,76	5,88	0,41	5,57	0,61	6,57	2,43	0,89

Tabla 8. Resultados obtenidos para el polvo de AB.

	día 1 y 2	día 1 y 3	día 2 y 3
t para Al	9,76	2,43	3,62
t para Bi	3,73	4,33	0,44
t para Ca	0,70	1,67	0,92
t para O	2,10	2,57	0,43
t para Si	2,56	1,56	0,94

Tabla 9. Estadístico t-Student para los test de diferencia de las medias entre las riquezas de elementos del polvo de AB.

	Lote 16689 *		Lote 16689 **		Lote 16689 ***		día 1 y 2	día 1 y 3	día 2 y 3
	medias día 1	DE día 1	medias día 2	DE día 2	medias día 3	DE día 3			
Al	1,09	0,2	1,57	0,09	1,61	0,59	23,95	3,48	0,02
Bi	5,93	0,37	7,5	0,94	9,99	5,05	12,08	3,21	1,17
Ca	29,98	0,95	29,74	1,47	32,07	13,03	0,09	0,13	0,16
O	55,36	0,9	53,36	0,51	47,53	0,15	18,69	368,22	601,36
Si	3,93	0,42	4,54	0,29	5,08	1,96	7,14	1,65	0,37
Fe	1,37	0,29	0,81	0,03	1,52	1,28	18,45	0,07	1,54
Mg	1,85	0,32	2,48	0,23	2,2	0,23	12,78	3,94	3,71

Tabla 10. Resultados obtenidos para el polvo de AG.

	día 1 y 2	día 1 y 3	día 2 y 3
t para Al	4,89	1,87	0,15
t para Bi	3,48	1,79	1,08
t para Ca	0,31	0,36	0,40
t para O	4,32	19,19	24,52
t para Si	2,67	1,28	0,61
t para Fe	4,30	0,26	1,24
t para Mg	3,57	1,99	1,92

Tabla 11. Estadístico t-Student para los test de diferencia de las medias entre las riquezas de elementos del polvo de AG.

	Lote 10003597 *		Lote 10003597 **		Lote 10003597 ***				
	medias día 1	DE día 1	medias día 2	DE día 2	medias día 3	DE día 3	día 1 y 2	día 1 y 3	día 2 y 3
Al	0,69	0,08	0,88	0,08	0,9	0,05	14,10	24,78	0,22
Bi	8,42	0,83	10,02	0,72	10,38	0,33	10,60	24,08	1,03
Ca	31,26	0,91	32,67	3,63	29,63	0,61	0,71	11,07	3,41
O	53,87	1,06	50,61	4,35	52,93	0,25	2,65	3,72	1,42
Si	5	0,59	5,2	0,35	5,63	0,16	0,42	5,31	6,24
Fe	0,42	0,03	0,22	0,05			58,82		
Mg	0,34	0,08	0,39	0,1	0,52	0,07	0,76	14,34	5,67

Tabla 12. Resultados obtenidos para el polvo de P.

	día 1 y 2	día 1 y 3	día 2 y 3
t para Al	3,76	4,98	0,47
t para Bi	3,26	4,91	1,02
t para Ca	0,84	3,33	1,85
t para O	1,63	1,93	1,19
t para Si	0,65	2,30	2,50
t para Fe	7,67	0,00	0,00
t para Mg	0,87	3,79	2,38

Tabla 13. Estadístico t-Student para los test de diferencia de las medias entre las riquezas de elementos del polvo de P.

A.1.1.5. Comparación de los resultados de EDX para el polvo de MTA

Para estudiar las diferencias entre el polvo de cada uno de los MTA, se calculó, de nuevo, el test de diferencia de medias calculando el estadístico t de Student estableciendo la significación en 0,05 (Tablas 14-15). Al no haber diferencias con el apartado anterior “Comparación entre los lotes de MTA polvo” en cuanto al número de muestras, se mantuvieron los 28 grados de libertad. Al revisar la tabla de t Student, se obtuvo 1,7, por lo que todos aquellos resultados que estuviesen por encima de dicha cifra, supondrán que existe diferencia significativa entre ambos.

	AB media	DE	AG media	DE	P media	DE	AB vs AG	AB vs P	AG vs P
Al	1,53	0,42	1,42	0,43	0,82	0,12	0,17	13,21	9,03
Bi	6,45	1,35	7,81	3,41	9,61	1,08	0,69	16,70	1,27
Ca	36,24	3,47	30,6	7,66	31,19	2,52	2,25	6,93	0,03
O	50,22	5,16	52,08	3,38	52,47	2,93	0,45	0,72	0,04
Si	5,45	0,74	4,52	1,26	5,28	0,48	2,03	0,19	1,59
Fe			1,23	0,82	0,21	0,17			7,42
Mg	0,34	0,07	2,18	0,37	0,42	0,11	119,38	1,88	103,95

Tabla 14. Resultados de EDX entre los MTA polvo.

	AB vs AG	AB vs P	AG vs P
t para Al	0,41	3,63	3,01
t para Bi	0,83	4,09	1,13
t para Ca	1,50	2,63	0,16
t para O	0,67	0,85	0,19
t para Si	1,42	0,43	1,26
t para Fe			2,72
t para Mg	10,93	1,37	10,20

Tabla 15. Resultados de t-Student de EDX para cada elemento.

A.1.1.6. Comparación de los resultados de EDX entre MTA polvo y fraguado

Nuevamente, se utilizó el test de diferencia de medias y se calculó el estadístico t de Student para el estudio de las diferencias entre el MTA

fraguado y polvo (Tablas 16-18). El valor 1,7, se mantuvo como en los aparatados anteriores al no variar el número de muestras.

	Polvo media	DE	Fraguado media	DE	Polvo vs fraguado	t Student
Al	1,53	0,42	2,4	0,52	8,47	2,91
Bi	6,45	1,35	5,97	1,8	0,23	0,48
Ca	36,24	3,47	29,58	3,76	8,47	2,91
O	50,22	5,16	57,27	5,85	4,08	2,02
Si	5,45	0,74	4,42	0,79	4,53	2,13
Mg	0,36	0,07	0,36	0,11	0	0

Tabla 16. Resultados de EDX entre AB polvo y fraguado.

	Polvo media	DE	Fraguado media	DE	Polvo vs fraguado	t Student
Al	1,42	0,43	0,98	0,32	3,37	1,84
Bi	7,81	3,41	6,42	1,76	0,66	0,81
Ca	30,6	7,66	28,29	4,71	0,33	0,57
O	52,08	3,38	60,03	6,11	6,48	2,55
Si	4,52	1,26	2,3	0,78	11,22	3,35
Fe	1,23	0,82	0,74	0,12	1,75	1,32
Mg	2,18	0,37	1,23	0,46	12,95	3,60

Tabla 17. Resultados de EDX entre AG polvo y fraguado.

	Polvo media	DE	Fraguado media	DE	Polvo vs fraguado	t Student
Al	0,82	0,12	1,12	0,08	21,63	4,56
Bi	9,61	1,08	8,05	0,59	8,03	2,83
Ca	31,19	2,52	29,71	0,48	1,66	1,29
O	52,47	2,93	56,08	0,81	7,05	2,66
Si	5,28	0,48	4,68	0,26	6,04	2,46
Fe	0,32	0,17	0,21	0,05	1,93	1,39
Mg	0,42	0,11	0,35	0,06	1,56	1,25

Tabla 18. Resultados de EDX entre P polvo y fraguado.

A.1.2. DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE LOS MTA MEDIANTE XPS

Los resultados aportados por XPS son proporcionados por el software CasaXPS en porcentaje atómico, con un error del 2%. Sin embargo, para poder compararlos con los de EDX, se transformaron a porcentaje en peso.

Los resultados en porcentaje en peso que se obtuvieron para cada elemento en el MTA polvo y fraguado se muestran a continuación en la Tabla 19:

	AB polvo	AG polvo	P polvo	AB fraguado	AG fraguado	P fraguado
Bi	14,18	19,73	19,42	2,91	14,41	14,98
Ca	43,24	33,44	35,07	37,08	33,75	35,59
O	37,14	35,77	41,93	51,58	43,03	42,51
Si	5,43	7,91	3,58	8,43	6,35	6,19
K		2,64			2,02	
Na		0,52			0,45	0,10
Fe						0,63

Tabla 19. Porcentaje en peso obtenido para cada elemento de MTA polvo y fraguado.

A.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

A.2.1. TRANSFORMACIÓN DE LOS RESULTADOS

La variabilidad de los resultados porcentuales de las diferentes publicaciones en relación a los de este estudio supuso que, para poder compararlos, hubiera que hacer una serie de transformaciones. Éstas se basaron en buscar aquel elemento de la composición, que, en esta investigación, independientemente del lote de MTA empleado, se mantuviera estable. Se descartaron desde el primer momento carbono y oxígeno, pues son elementos que dependen de la hidratación y se consideraron ambientales. Además, el papel sobre el que se colocaron las muestras en el EDX fue de carbono.

Tras comparar la composición de los polvos de los 3 lotes de cada MTA empleados en este estudio con EDX, prácticamente la totalidad de los elementos presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) de un lote a otro. Sin embargo, esto no sucedió en el caso del calcio para AB y AG. Por tanto, se consideró el calcio como el elemento más estable en la matriz del MTA y se

decidió transformar y recalcular los resultados en relación a él. De esta manera, en vez de hacer referencia al porcentaje en peso de cada elemento, los resultados de cada elemento estarán dados en relación al calcio.

Una vez realizado el ajuste con respecto al calcio, los resultados con el EDX para los diferentes polvos de MTA fueron los que se muestran en la Tabla 20:

	AB polvo	AG polvo	P polvo	AB fraguado	AG fraguado	P fraguado
Al	4,23	4,69	2,66	8,05	4,39	3,94
Bi	17,75	24,83	30,87	14,28	21,57	18,15
Ca	100	100	100	100	100	100
O	139,05	181,70	168,63	205	58,99	198,14
Si	15,03	14,80	16,98	13,52	8,94	11,46
Fe	0,88	3,63	1,25		3,05	
Mg		7,62	1,35	1,30	5,55	1,20
K		1,67				

Tabla 20. Composición másica de los diferentes elementos del MTA obtenidos con EDX y expresada relativa al calcio.

Los resultados de este estudio en relación al calcio empleando XPS se muestran en la Tabla 21:

	AB polvo	AG polvo	P polvo	AB fraguado	AG fraguado	P fraguado
Bi	33	59	55	8	43	42
Ca	100	100	100	100	100	100
O	86	107	120	139	128	119
Si	13	24	10	23	19	17
Fe						2
K		8			6	
Na		2			1	

Tabla 21. Composición másica de los diferentes elementos del MTA obtenidos con XPS y expresada relativa al calcio.

Mientras que los resultados de las publicaciones revisadas, ajustadas a su vez con respecto al calcio, quedaron de la siguiente manera en la Tabla 22:

	MTA	Método	Polvo/ fraguado	Elementos							
				Ca	O	Si	Al	Fe	Bi	Mg	K
Patente	AB			100	73,15	19,28	6,18	1,68	43,79		
Oliveira 2007 [139]	AB	EDX	fraguado	100	66,73	7,66	1,94		20,49	0,94	
Camilleri 2012 [130]	AB	EDX	polvo	100	63,70	15,87	3,8		19,74		
Patente	AG			100	81,99	21,24	4,57	7,53	48,12	2,69	0,81
Patente	P			100	78,75	21,11	4,55		59,84	2,58	
Oliveira 2007 [139]	P	EDX	fraguado	100	95,7	16,81		6,63	25,53	2,55	0,46
Dammaschke 2005 [3]	P	EDX		100	102,43	17,52	1,62		45,55		
Dammaschke 2005 [3]	P	XPS		100	109,91	20,42	3,3		44,74		
Camilleri 2008 [123]	P	DRX		100	76,64	25,80			49		
Asgary 2005 [2]	P	EDX	fraguado	100	122,72	31,34	3,23	0,99	45,78	2,59	
Asgary 2008 [263]	P	EDX	fraguado	100	120,23	31,29	3,16	1,04	45,67	2,53	

Tabla 22. Resultados de las publicaciones revisadas en relación al calcio.

En referencia a la metodología de las publicaciones recogidas en la Tabla 22, véanse una serie de peculiaridades a tener en cuenta:

- En ningún artículo se estudiaron los 3 tipos de MTA: AB, AG y P.
- Predominó el método EDX por encima de XPS.
- No se especificó si las muestras estudiadas eran de polvo o del MTA fraguado. Por ello, en caso de no existir especificación, se supuso que se referían a polvo.
- No se indicó el número de muestras empleadas en cada una de las investigaciones.

A.2.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS DE COMPOSICIÓN DEL MTA CON RESPECTO A OTRAS PUBLICACIONES

A.2.2.1. EDX para el estudio del polvo de MTA

En esta investigación para los 3 tipos de MTA se encontró siempre mayor relación de oxígeno que el indicado para el AB por parte de la patente o el medido por Camilleri [130]; que en la patente de AG; y, en el caso de P, en su patente y en el estudio de Dammaschke [3]. Esta situación se debió a que en todas las patentes y las publicaciones [3, 130] se eliminó el agua de los resultados finales mediante cálculos estequiométricos, mientras que en nuestro caso se mantuvo la medida de concentración de oxígeno, sin realizar extrapolaciones, por lo que se incluyó el contenido del agua adsorbida en la muestras.

Con respecto al bismuto, para el AB, los resultados fueron similares a los de Camilleri [130], siendo la mitad de la relación con respecto al calcio que lo expuesto en la patente. En el caso tanto de AG como de P, de nuevo se

encontró la mitad de bismuto que lo expuesto en la patente. En el caso de P, Dammaschke [3] detectó valores intermedios entre los nuestros y los de la patente.

En referencia al hierro, éste se menciona en la patente de AB, pero ni Camilleri [130], ni en este estudio fue detectado. Para AG, se obtuvo la mitad de hierro que el expuesto en la patente. Sorprendentemente, en el caso de P, ni la patente ni Dammaschke [3] detectaron hierro, pero sí se encontró en nuestro caso y de forma significativa, porque la medida detectada fue superior a dos veces la DE.

En relación al resto de metales, en AB sólo en este estudio se detectó magnesio. Para AG se encontró mayor relación para el magnesio y potasio que el indicado en la patente.

A.2.2.2. EDX para el estudio de la composición de los MTA fraguados

Nuevamente y dado que en este estudio no se eliminó el agua, los valores de oxígeno fueron superiores a los de Oliveira [139] para el AB fraguado y los resultados de Asgary [2, 263] y Oliveira [139] para P fraguado.

Con respecto al bismuto, en el caso de AB fraguado Oliveira [139] obtuvo valores mayores a los de este estudio. Para P fraguado, los valores fueron similares a los de Oliveira [139]; sin embargo ambos fueron muy inferiores a los aportados por Asgary [2, 263].

En cuanto al hierro, en P fraguado se detectó en todas las publicaciones revisadas [2, 139, 263], no siendo así en este estudio. Sucede, por tanto, lo contrario del caso de este mismo MTA en polvo. Este hecho pondría de manifiesto que el hierro está presente en P, aunque los autores no lo detectaran en el polvo.

Los resultados de este estudio para AB fraguado fueron similares a los de Oliveira [139] en referencia al silicio y magnesio, mientras que en nuestro caso se encontraron valores muy superiores en el caso del aluminio.

Con respecto al resto de elementos detectados en P fraguado, los valores fueron similares a los de Asgary [2, 263] para el aluminio, no detectándose en el caso de Oliveira [139]. Finalmente, en las 3 publicaciones [2, 139, 263] se encontró más del doble de magnesio que en este estudio.

A.2.2.3. XPS para el estudio de P polvo

Los resultados de este estudio se compararon únicamente con los de Dammaschke [3], pues sólo en el suyo se empleó XPS y P.

En cuanto a la metodología de preparación de las muestras, ambos debimos secarlas rigurosamente antes de introducirlas en el ultravacío del XPS [3]. El ultravacío supone que el secado de las muestras sea mayor en XPS que en EDS.

En el proceso de preparación de las muestras, sólo Dammaschke [3] introdujo un paso más: el spattering. Éste consiste en limpiar superficialmente las muestras mediante argón para eliminar el carbono absorbido, dejando únicamente el oxígeno estructural. En caso de realizar este procedimiento, se reducirá la concentración final de los componentes superficiales de los materiales, pero sobre todo se verá afectado el oxígeno al ser el elemento más ligero. En nuestro caso se decidió no llevar a cabo spattering porque podrían llegar a no detectarse elementos como el hierro y aluminio que quedan en la superficie de la pastilla y son importantes en la composición del MTA.

Teniendo en cuenta el ultravacío y el spattering, los resultados de este estudio para el oxígeno fueron superiores a los de Dammaschke [3], aunque, esta vez, la diferencia fue menor de un 10%.

A.2.3. DIFERENCIAS EN LA COMPOSICIÓN DE LOS MTA DE ESTE ESTUDIO

El análisis cuantitativo llevado a cabo con EDX y XPS tanto en el cemento en polvo como ya fraguado se limitó a la zona superficial de las muestras. EDX y XPS llegan a distintas profundidades y, al fraguar el MTA, los diferentes tamaños de las partículas que lo forman, pueden hacer que éstas queden recubiertas de las sales diluidas en el fraguado que podrían justificar las diferencias en la composición superficial observada.

A.2.3.1. Diferencias entre la composición del polvo de MTA con EDX

En el estudio del polvo de MTA con EDX, la única diferencia significativa ($p < 0,05$) entre AB y AG fue la ausencia de hierro en el primero. Esta situación corroboró lo expuesto por la casa comercial Ángelus que indicaron que la única disparidad entre sus cementos blanco y gris, es la ausencia de hierro en el blanco.

En el caso de la presencia de bismuto, la relación fue mayor en P que en AB y AG, pero sólo resultó significativa entre P y AB ($p < 0,05$). El hecho de que P contuviese mayor cantidad de bismuto confirmó lo expuesto en otras publicaciones [58, 115, 123, 128, 131].

AG en comparación con P presentó una relación significativamente mayor ($p < 0,05$) de aluminio, magnesio y, por supuesto, hierro. De nuevo, la obtención de mayor presencia de metales, sobre todo hierro, corroboró las diferencias entre los MTA blancos y grises [58, 60, 64].

A.2.3.2. Diferencias entre la composición de MTA polvo y fraguado con EDX

En el caso del AB, existió diferencia significativa ($p < 0,05$) de mayor relación para aluminio, oxígeno y de menor para el silicio. No hubo diferencia significativa ($p > 0,05$) para el bismuto entre el polvo y el MTA fraguado.

Para el AG, hubo menos concentración significativa ($p < 0,05$) para el MTA fraguado en relación a aluminio, oxígeno, silicio y magnesio. No hubo diferencia significativa para hierro y bismuto ($p > 0,05$) entre el polvo y el MTA fraguado.

En P, hubo diferencia significativa ($p < 0,05$) para aluminio, bismuto, oxígeno y silicio. No hubo diferencias ($p > 0,05$) para hierro y magnesio entre el polvo y el MTA fraguado.

A.2.3.3. Diferencias en la composición de los MTA con XPS

En el caso de los polvos de MTA, llamó la atención el hecho de que se encontró mayor relación de bismuto para AG y P que para AB. No se detectó hierro en ninguna de las muestras estudiadas. Sólo en el caso de AG se detectó potasio.

En los MTA fraguados, el silicio fue mayor en el caso del AB, en comparación con AG y P que tuvieron cifras similares. Nuevamente, la relación de bismuto fue mucho menor para el AB en comparación con AG y P. En la pastilla de P, sí se detectó la presencia de hierro. En P, aparecieron hierro y sodio al fraguar el material.

Con respecto al comportamiento del bismuto, la cantidad de éste detectada disminuyó una vez fraguado el MTA. Este hecho sucedió en los 3 tipos de MTA. El oxígeno aumentó en las muestras fraguadas, debido, probablemente a la hidratación del polvo del MTA.

B. TAMAÑO, FORMA Y DISTRIBUCIÓN DE LAS PARTÍCULAS DE MTA

B.1. RESULTADOS

B.1.1. IMÁGENES DE EJEMPLO DE CADA MTA ANTES Y DESPUÉS DE LA SEGMENTACIÓN

Seguidamente, en las Figuras 50-51, se muestra un ejemplo de los resultados de la segmentación obtenida para cada tipo de MTA en función de la magnificación empleada.

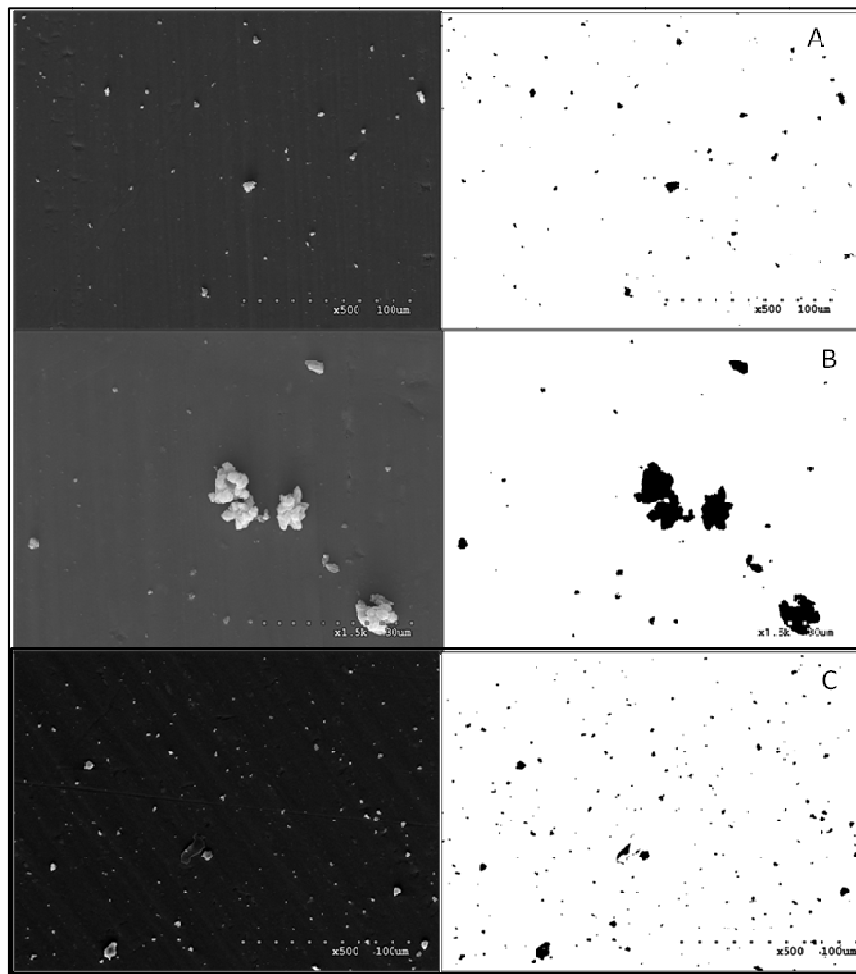


Figura 50. Segmentación obtenida para AB (A), AG (B) y P (C) x1500.

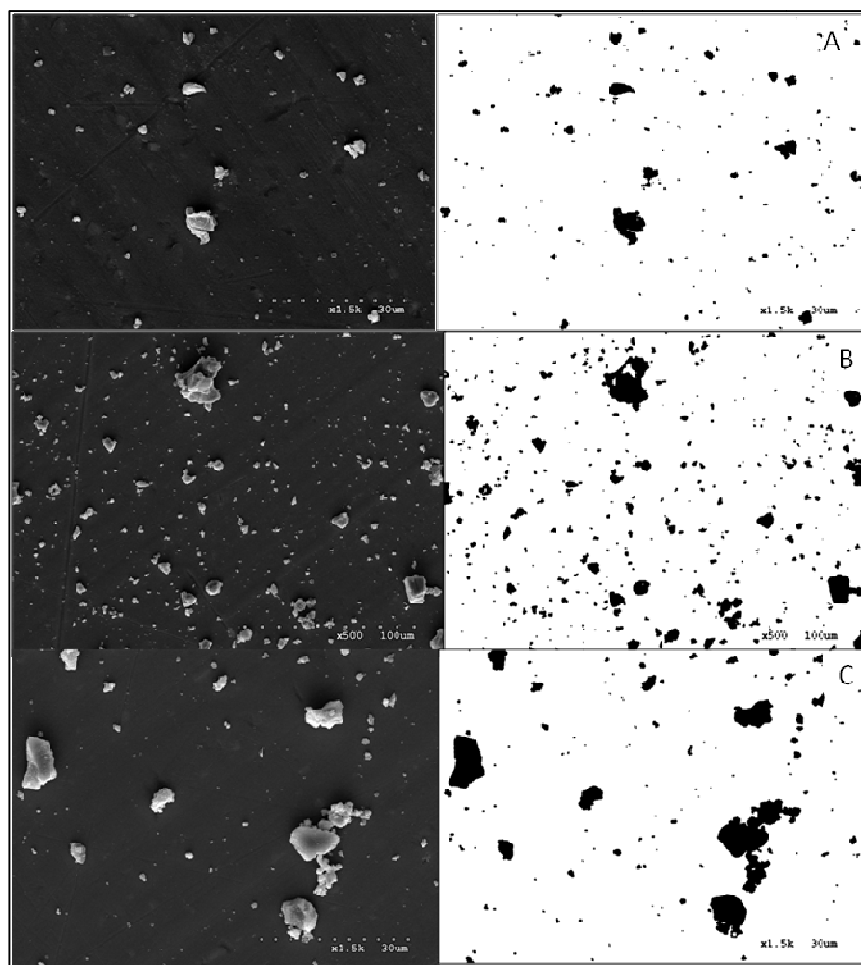


Figura 51. Segmentación obtenida para AB (A), AG (B) y P (C) x500.

B.1.2. RESULTADOS DEL TAMAÑO DE LAS PARTÍCULAS DE MTA

B.1.2.1. Representación gráfica de los histogramas

Para poder representar las dos magnificaciones x500 y x1500 para cada tipo de MTA en un histograma en una forma comparable, hubo que hacer una serie de cálculos previos. En el histograma de x500 se normalizó el número de partículas a 1, dividiendo el número de partículas en cada intervalo por el número total de partículas; por su parte, el histograma de x1500 se calibró multiplicándolo por 9, ya que las imágenes de x1500 corresponden teóricamente a 1/9 del área cubierta por las de x500 y, posteriormente se las dividió por el número total de partículas del histograma de x500. De este modo,

se logró una representación comparable en el rango de partículas grandes común a ambos histogramas.

Se confeccionó un histograma para cada uno de los 3 tipos de MTA (Figura 52). En cada histograma aparece de color azul los resultados del histograma de x1500, en rojo los resultados del histograma de x500 y en magenta se representa la zona de superposición de los histogramas de ambas magnificaciones. Las barras de error se calcularon como la desviación típica de la distribución de Bernoulli de un número de muestras idénticamente distribuidas igual al observado.

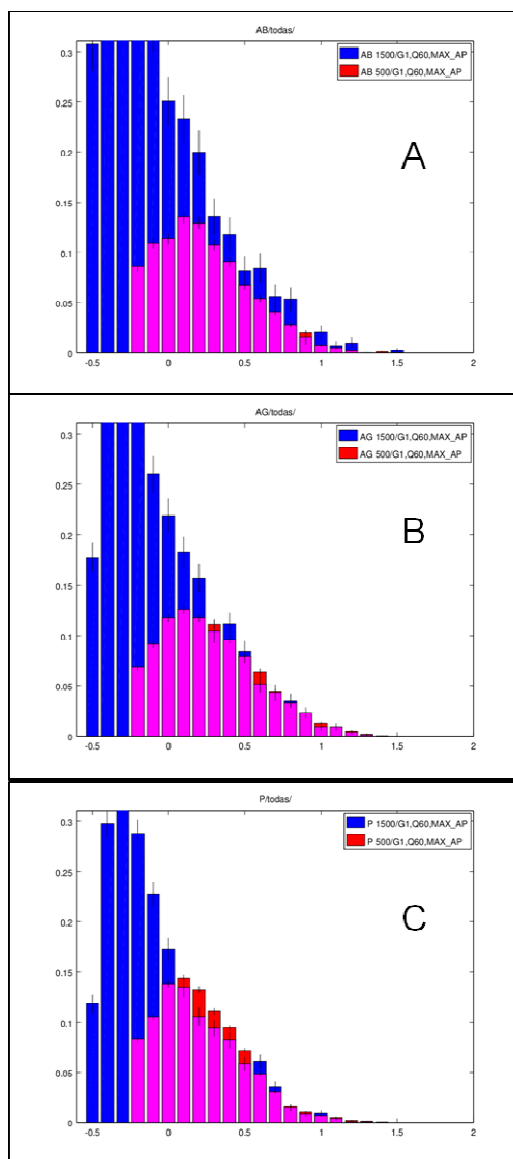


Figura 52. Histograma del tamaño de partículas de AB (A), AG (B) y P (C).

B.1.2.2. Resultados descriptivos del tamaño de las partículas

Para calcular el tamaño medio de las partículas de MTA, se tomaron sólo las del histograma de x1500, porque éste abarcaba el rango tanto de partículas grandes y pequeñas desde 0,7-16 μm .

Así, se obtuvo que el tamaño medio (y error estándar de éste) de las partículas de cada MTA fue:

- AB: $2,1 \pm 0,055 \mu\text{m}$
- AG: $2,034 \pm 0,043 \mu\text{m}$
- P: $1,923 \pm 0,033 \mu\text{m}$

Los percentiles de nuestros resultados, también calculados a partir de x1500, se indican en la Tabla 23:

	Percentil 10	Percentil 50	Percentil 90
AB	0,748	1,349	4,419
AG	0,757	1,328	4,193
P	0,748	1,276	3,990

Tabla 23. Percentiles para partículas entre 0,676-16 μm para partículas de x1500.

B.1.3. RESULTADOS DE LA FORMA DE LAS PARTÍCULAS DE MTA

B.1.3.1. Representación gráfica de la forma de las partículas

A continuación se muestran los gráficos de circularidad para cada uno de los MTA (Figura 53). En el eje de abscisas se representa el logaritmo del tamaño de las partículas relativo a 1 μm y en el eje de ordenadas la circularidad corregida de las partículas (ver apartado 7 de Metodología de tamaño y forma del MTA). La circularidad tiene valores entre 0-1. Cada punto que aparece en la gráfica corresponde a una partícula de MTA. También se representa la circularidad media y sus desviaciones estándar a lo largo de toda la nube de

puntos. En rojo aparecen los valores calculados a partir de las imágenes de x500 y en azul a partir de las imágenes de x1500.

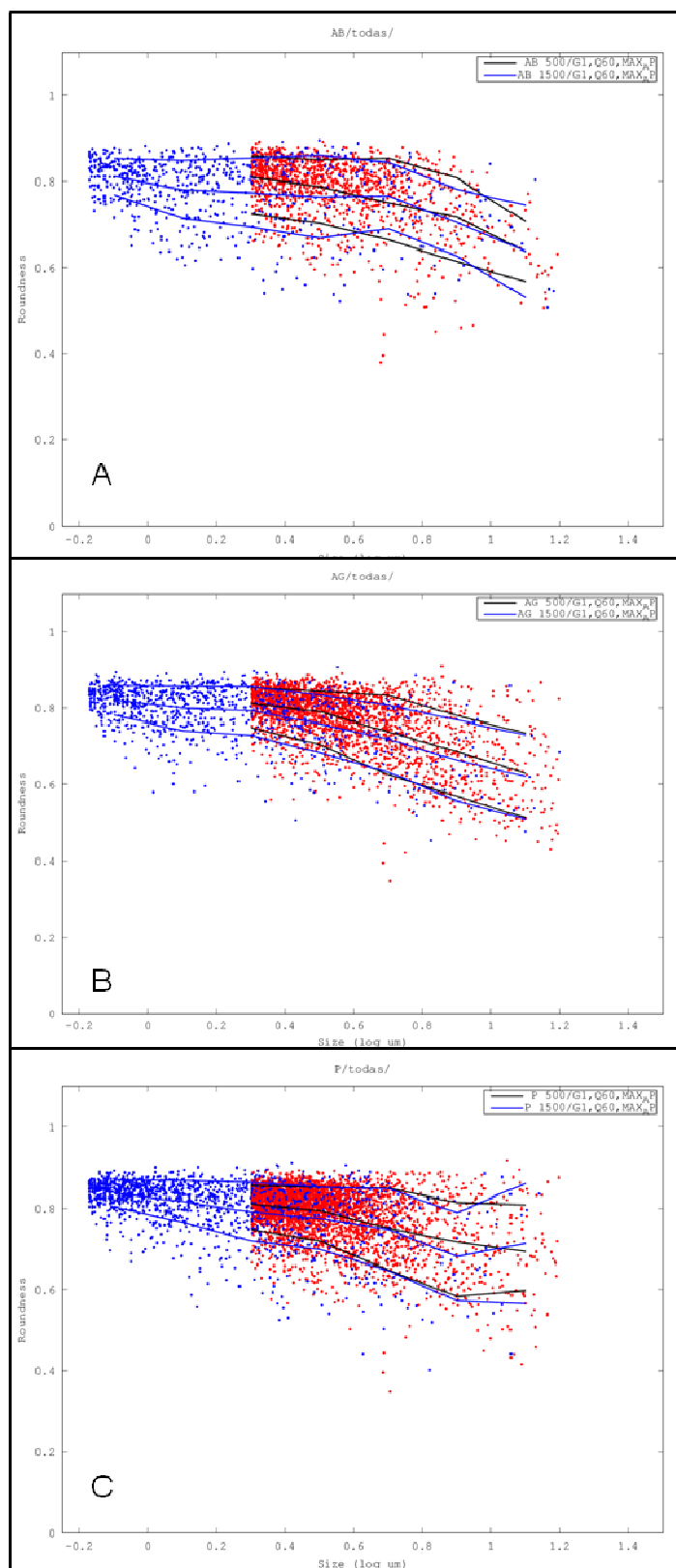


Figura 53. Resultados de circularidad AB (A), AG (B) y P (C).

B.1.3.2. Resultados descriptivos de la forma de las partículas

Los resultados medios de circularidad y las desviaciones estándar de las partículas de MTA aparecen en la Tabla 24:

	P	AB	AG
x500	$0,784 \pm 0,076$	$0,773 \pm 0,083$	$0,765 \pm 0,087$
x1500	$0,806 \pm 0,07$	$0,782 \pm 0,073$	$0,789 \pm 0,073$
Total	$0,789 \pm 0,075$	$0,777 \pm 0,08$	$0,771 \pm 0,084$

Tabla 24. Resultados de circularidad media y DE de las partículas de MTA.

Se estudiaron los tamaños medios para partículas de tamaño 1 μm , 2,5 μm y 5 μm y 10 μm (Tabla 25). En este caso, las medias indicadas fueron, en realidad, puntos medios entre x500 y x1500, calculadas, a su vez, promediando las circularidades en intervalos de tamaños. En vez de hablar de DE, en este caso sería más correcto referirnos al error estimado a partir de las propias observaciones de x500 y x1500, es decir, la diferencia de estimación al medir con 2 magnificaciones y tener diferente número de partículas. Los resultados fueron los siguientes:

	1 μm	2,5 μm	5 μm	10 μm
AB	$0,80 \pm 0,05$	$0,78 \pm 0,07$	$0,76 \pm 0,08$	$0,67 \pm 0,09$
AG	$0,81 \pm 0,04$	$0,79 \pm 0,06$	$0,72 \pm 0,09$	$0,65 \pm 0,1$
P	$0,83 \pm 0,04$	$0,79 \pm 0,06$	$0,75 \pm 0,09$	$0,70 \pm 0,1$

Tabla 25. Resultados medios de circularidad para 1 μm , 2,5 μm , 5 μm y 10 μm .

B.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

B.2.1. PUNTOS DE INTERÉS DE LA METODOLOGÍA EMPLEADA

Basándonos en estudios previos [128, 178], la metodología se apoyó en que sobre las imágenes obtenidas con el SEM y mediante un programa de imagen, existe la **posibilidad de medir directamente sobre ellas**. En este caso y con el objetivo de poder calcular el tamaño y forma de las partículas de MTA, los valores medidos para cada partícula fueron: área, perímetro y diámetro de Feret.

Mediante este método, el rango de tamaño de partículas a detectar fue de **0,7-16 μm** , mientras que FPIA-3000 en su modo HPF fue de 1,5-40 μm [67-69] y el de la difracción láser de 0,05-550 μm [74]. Habrá que tener en cuenta que el MTA está formado por partículas de muy pequeño tamaño, por lo que las cifras del rango menor son las que podrían llegar a condicionar las diferencias entre los resultados de las publicaciones. De hecho el método ideal debería no tener corte inferior de tamaño mínimo de partícula.

Otra novedad que se introdujo fue la de tomar las imágenes empleando **2 magnificaciones**: x500 y x1500. Este hecho permitió determinar estadísticamente los márgenes de confianza de la medida. Si el número de partículas observadas con los 2 métodos coincidía en un intervalo, se podría extrapolar la confianza fuera de ese intervalo: en x1500 hacia la zona de partículas más pequeñas y en x500 hacia la zona de partículas de mayor tamaño. Fue, por tanto, un método para poder validar nuestros resultados, que no se llevó a cabo en las publicaciones revisadas [67, 68, 74].

Por último, para poder obtener resultados del tamaño y forma de las partículas independientes del estado de almacenamiento del cemento, fue necesario que los **aglomerados de partículas de los polvos de MTA se disgregasen**. Para ello, se sonicaron las partículas bien en alcohol al 99% [67-69] o bien en hexametáfosfato de sodio [74].

Sin embargo, en este estudio y a pesar de haber sonificado el polvo de MTA diluido en alcohol al 99% y de la gran calidad de las imágenes obtenidas con el SEM, se encontró que en numerosas imágenes, las partículas de MTA se encontraban agregadas todavía. Para tratar de paliar esta situación en todas las imágenes se realizaron los siguientes ajustes mediante el programa FIJI, siguiendo este orden:

- Aplicación del filtro gaussiano. Mediante él se logró que las partículas ganaran en definición, se eliminó el polvo que aparecía en el fondo de las imágenes y, sobre todo, consiguió separar un gran número de partículas que habían quedado muy próximas. Sin embargo, su aplicación pudo ocasionar que se “perdiera” alguna partícula de las más pequeñas.
- Erosiones y dilataciones morfológicas. Puesto que todavía había partículas que se encontraban agrupadas, sobre la imagen ya segmentada se realizaron erosiones y dilataciones morfológicas.
- Eliminación de imágenes. Si, a pesar de las transformaciones, las partículas seguían agrupadas, las imágenes fueron descartadas.

B.2.2. PUESTA A PUNTO DE NUESTRA METODOLOGÍA: CALIDAD DEL MUESTREO REALIZADO

Primeramente y puesto que la toma de imágenes con dos magnificaciones es metodológicamente diferente a los propuestos en otros estudios, se trató de valorar la calidad del muestreo que realizado con el SEM. Para ello, se calculó el valor f , que se definió como el cociente entre el número promedio de partículas por unidad de superficie encontradas en cada una de las magnificaciones utilizadas con el SEM (Tabla 26). El valor ideal sería 1; valores inferiores a 1 indicarían que se tomaron más partículas de x1500 de las debidas en comparación con las de x500 y valores superiores a 1 supondría

que se cogieron más partículas en las imágenes de x500 en comparación a las de x1500.

	Nº partículas x500	Nº partículas x1500	Valor f
Histograma AB	3362	1375	0,7
Histograma AG	6359	1967	0,96
Histograma P	10932	2586	1,03

Tabla 26. Número de partículas analizadas para cada magnificación y valor f.

Véase que la calidad del muestreo fue óptima para AG y P, puesto que el valor f rondó 1. Sin embargo, para AB se tomaron más partículas en x1500 de las debidas en comparación con x500, pudiendo deberse a variaciones en la dilución o en el procedimiento subjetivo (no automático) del muestreo.

B.2.3. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS DEL TAMAÑO DE LAS PARTÍCULAS DE MTA

B.2.3.1. Transformación de los resultados de tamaño de las partículas de MTA

Los resultados del tamaño de las partículas de cada MTA se representaron en forma de histograma. Para ninguno de los 3 tipos de cemento la distribución obtenida se ajustó adecuadamente a una distribución habitual, impidiéndose así su caracterización fácilmente. Por ello, hubo que transformar cada uno de los histogramas a curvas que aportaran mayor información. Con ello se buscó pasar de una distribución empírica a una fórmula matemática que pudiera explicar la distribución obtenida. A la vista de la forma del histograma para las partículas más grandes, se propuso la siguiente fórmula:

$$N(L) = (a \log L + b)^c$$

donde:

- $N(L)$: corresponde al logaritmo del número de partículas por intervalo.
- c : determina la forma de la curva que se va a representar y así cuantificar las posibles diferencias entre los MTA. El exponente se determinó como aquél que proporcionó un mayor coeficiente de correlación de Pearson en el ajuste.
- b/a : representa el valor de corte del histograma con el eje de las X y se interpreta como un valor por encima del cual sería muy improbable encontrar partículas de tamaño mayor.

Con el fin de aunar los resultados de ambas magnificaciones en una única curva, se realizó el ajuste de la expresión de la siguiente manera: para x500 se tuvo en cuenta para el tramo de partículas comprendido entre $2\text{ }\mu\text{m}$ - $16\text{ }\mu\text{m}$ y para x1500 el intervalo de $0,7\text{ }\mu\text{m}$ - $16\text{ }\mu\text{m}$ (Figura 54). De esta forma, el estudio de las partículas más pequeñas se llevó a cabo empleando sólo los resultados del histograma de x1500 y, para partículas más grandes, se tuvieron en cuenta los resultados de ambas magnificaciones.

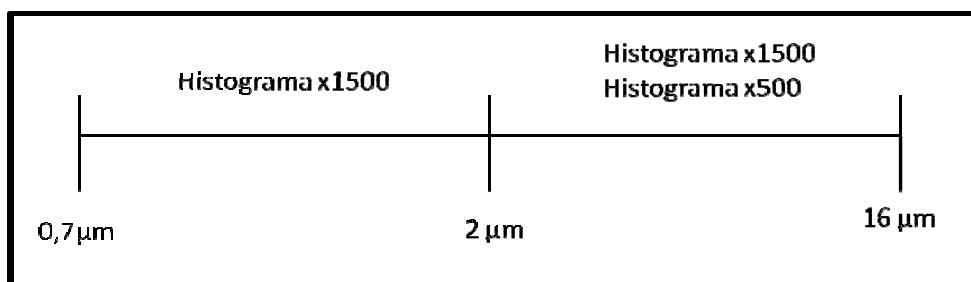


Figura 54. Magnificaciones empleadas en cada uno de los tramos del histograma.

Para la zona común de ambos histogramas, en la Tabla 27, se indica el número de partículas:

	Nº partículas x500	Nº partículas x1500
Histograma AB	1420	224
Histograma AG	3004	348
Histograma P	4309	466

Tabla 27. Número de partículas comprendidas en el tramo 2-16 μm .

La clave para poder pasar representar las nuevas curvas según la fórmula propuesta, residió en obtener los coeficientes de ajuste para cada tipo de MTA, tal y como se muestran en la Tabla 28-29:

x500	a	b	c	- b/a
Histograma AB	-0,31	0,39	1,85	1,274
Histograma AG	-0,31	0,42	1,96	1,38
Histograma P	-0,39	0,81	5,55	2,00

Tabla 28. Coeficientes de ajuste para cada MTA en x500.

x1500	a	b	c	- b/a
Histograma AB	-0,4	0,55	2,22	1,38
Histograma AG	-0,37	0,55	2,56	1,51
Histograma P	-0,35	0,47	2,33	1,34

Tabla 29. Coeficientes de ajuste para cada MTA en x1500.

Si estos coeficientes se sustituyen en las ecuaciones de las curvas y se representan sobre los histogramas corregidos con los valores de f calculados en los resultados, se obtienen las siguientes gráficas (Figura 55):

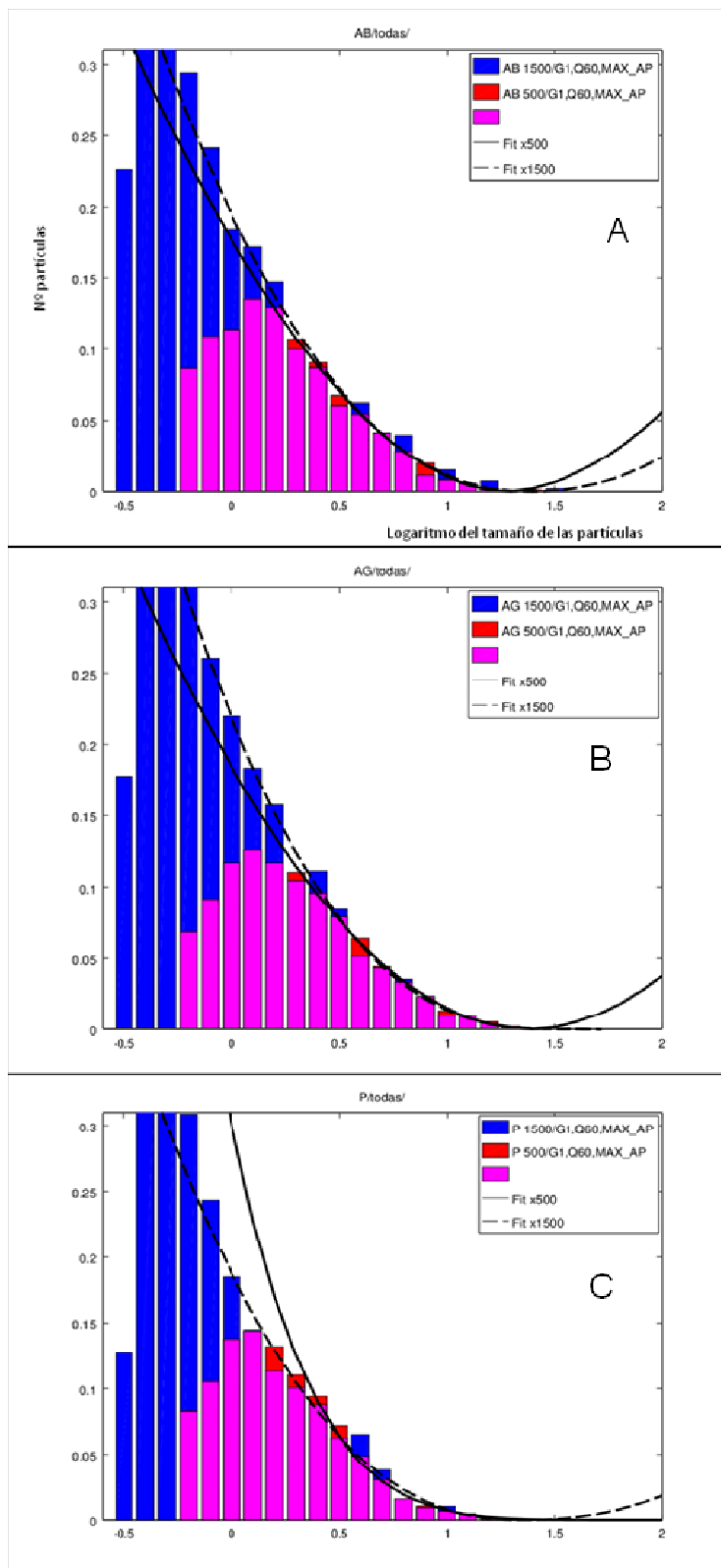


Figura 55. Histograma ajustado para AB (A), AG (B) y P (C).

B.2.3.2. Información aportada por los histogramas ajustados para cada MTA

Dentro de nuestros resultados, los coeficientes calculados para cada MTA, el más representativo fue el exponente c . A partir de él, obtuvimos que en los histogramas de x500 (donde existió mayor número de partículas de tamaño grande con las que ajustar la cola de la expresión analítica propuesta), éste fue similar para AB y AG, mientras que el de P fue ampliamente mayor. Esto supuso que:

- Para P:
 - En las partículas de mayor tamaño, el número de partículas dependió muy débilmente del tamaño de éstas.
 - para partículas hasta $2\ \mu\text{m}$, el número de partículas aumentó muy rápidamente.
 - por debajo de $2\ \mu\text{m}$, la curva ajustada sobreestimó el número de partículas observadas.

- Para AB y AG:
 - en las partículas de mayor tamaño, la dependencia del número de partículas con el tamaño varió progresivamente a lo largo del histograma ajustando bien para x500 en toda la zona de coincidencia de x1500.
 - las curvas de x500 y x1500 ajustaron bien hasta $1,5\ \mu\text{m}$.

Estas diferencias entre AB y AG con respecto a P podrían interpretarse como que en éste último las partículas presentaron un tamaño más homogéneo, eliminándose aquéllas de mayor tamaño.

El exponente c para la magnificación de x1500 fue similar para los 3 tipos de MTA, deduciéndose que para las partículas más pequeñas en cualquiera de los 3 cementos la diferencia en distribución no fue significativa.

B.2.3.3. Discusión de los resultados de tamaño de las partículas de MTA

Los resultados obtenidos en este estudio podrían compararse con los de Komabayashi [67, 68] y Ha [74]. Para poder hacerlo, fue necesario emplear los resultados descriptivos de esta investigación.

B.2.3.3.1. Estudios de Komabayashi

Komabayashi [67, 68], que empleó FPIA-3000 con la opción HPF para medir el tamaño de las partículas, obtuvo tamaños medios de partícula y DE superiores a los nuestros para los 3 tipos de MTA (Tabla 30):

	Komabayashi 2008 [67]	Komabayashi 2014 [68]	Este estudio
AB	2,97 ± 2,92 µm		2,1 ± 2,04 µm
AG	3,57 ± 3,94 µm		2,03 ± 1,91 µm
P	2,96 ± 2,3 µm	2,04 ± 1,87 µm	1,92 ± 1,68 µm

Tabla 30. Comparación sobre el tamaño de las partículas medio y DE entre Komabayashi [67, 68] y este estudio.

Véase que en el estudio de Komabayashi [68] de 2014, el tamaño medio de partícula de P fue menor que en la publicación anterior. Este nuevo valor se aproximó más a nuestros resultados.

El motivo que podría dar lugar a que las partículas estudiadas por Komabayashi [67, 68] fuesen de mayor tamaño, podría residir en que FPIA-3000 en modo HPF es sólo capaz de detectar partículas mayores de 1,5 µm, mientras que en este estudio podrían llegar a observarse y medirse correctamente partículas mayores de 0,676 µm. Este hecho supondría que Komabayashi [67, 68] dejara de analizar muchas partículas de pequeño tamaño que en nuestro caso sí se detectaron. Para confirmar esta premisa, se

recalaron nuestros resultados sólo tomando las partículas mayores de 1,5 μm en el histograma de x1500, para simular el método HPF de Komabayashi [67, 68]. Debido a ello, nuestros resultados variaron como se muestra en la Tabla 31:

	Tamaño de partícula
AB	$3,54 \pm 2,43 \mu\text{m}$
AG	$3,43 \pm 2,26 \mu\text{m}$
P	$3,21 \pm 1,94 \mu\text{m}$

Tabla 31. Tamaño medio y DE de las partículas de MTA con nuestro método tomando sólo las partículas de 1,5-16 μm .

Los valores obtenidos en las partículas eliminando aquellas entre 0,676-1,40 μm , superaron las cifras de tamaño de partícula obtenidas por Komabayashi [67, 68]. Pero lo que más llamó la atención fue el gran número de partículas que se perdieron en este estudio eliminando las partículas de 0,676-1,40 μm (Tabla 32).

	Nº partículas 0,676-16 μm	Nº partículas 1,5-16 μm
AB	1375	568
AG	1967	422
P	2586	281

Tabla 32. Número de partículas en relación a la franja de tamaño de partículas a estudiar.

Esta situación pone de manifiesto la importancia de haber tomado las imágenes con x1500, ya que permitió detectar un gran número de partículas de pequeño tamaño, que no constaron en los estudios de Komabayashi [67, 68].

B.2.3.3.2. Estudio de Ha

Ha [74] empleó difracción láser para el estudio del tamaño de las partículas de P y los resultados los aportó en forma de percentiles. El tamaño de partícula para cada uno de los percentiles fue mayor en el estudio de Ha [74] en comparación con nuestros resultados (Tabla 33):

	Percentil 10	Percentil 50	Percentil 90
Ha [74] 2014 P	1,13 μm	1,99 μm	4,3 μm
Resultados de este estudio para P	0,75 μm	1,276 μm	3,99 μm

Tabla 33. Comparación sobre el tamaño de las partículas entre Ha [74] y este estudio.

La difracción láser empleada por Ha [74] permitía llegar a detectar partículas de hasta 0,05 μm . Este hecho, si nos basamos en la justificación dada anteriormente para la diferencia de nuestros resultados con los de Komabayashi [67, 68], debería haber supuesto que Ha [74] obtuviera tamaños medios de partícula para cada percentil inferiores a los nuestros. Sin embargo, no ha sido así probablemente por las diferentes metodologías empleadas.

En este caso, y quizás también en los estudios de Komabayashi [67, 68], el haber obtenido valores de tamaño superior a los nuestros pudiera deberse a que los autores observaran agregados de partículas y no partículas independientes. Recordemos que en esta investigación, para evitar los agregados de partículas, se sometió al polvo de MTA a insonificación (como ambos autores) y, posteriormente, se trataron las imágenes mediante el programa de imagen FIJI, antes de calcular el tamaño de las mismas.

B.2.4. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA FORMA DE LAS PARTÍCULAS DE MTA

B.2.4.1. Transformación de los resultados de la forma de las partículas

Para poder calcular la circularidad es imprescindible conocer el perímetro de las partículas. El perímetro es un valor en el que fácilmente pueden introducirse errores si se calcula a partir de píxeles tal y como hace el programa FIJI.

Para estudiar el grado de error que se produce al calcular la circularidad mediante los valores de área y perímetro aportados por el programa FIJI, se realizó una prueba. Se calculó la circularidad de un mismo círculo y una misma partícula con forma de estrella, pero de tamaños distintos. En ambos casos se obtuvo mayor circularidad cuando el círculo o la partícula estrellada eran de menor tamaño. Sin embargo, con cada duplicación de tamaño, la circularidad de la partícula estrellada descendió un 0,2-0,3, mientras que en el círculo disminuyó un 0,7. Esto supuso que para partículas redondeadas, la diferencia de circularidad variara mucho más que en partículas en las que existan picos.

En nuestro caso, en el histograma de x500 se cometió un error mayor que en el de x1500 para un mismo tamaño real de partícula. Por ello, hubo que transformar el histograma de x500, tal y como se describió en el apartado 7.2 de “Material y método de tamaño y forma de las partículas de MTA”.

B.2.4.2. Discusión de forma de las partículas de MTA

Los valores de circularidad en los 3 tipos de MTA de este estudio se situaron en torno a $0,78 \pm 0,07 \mu\text{m}$, sin existir diferencias significativas entre ellos ($p > 0,05$). Además, para los 3 tipos de MTA la relación entre tamaño y circularidad fue similar, de forma que a mayor tamaño, la circularidad media disminuyó y, a su vez, aumentó la DE.

Al analizar por tipo de MTA y circularidad media por tamaño de partícula, se obtuvo que AB y AG sufrían un descenso en su circularidad más abrupto que P debido a que los histogramas de los primeros tenían menos partículas grandes. Destacó el hecho de que P presentó una circularidad media mayor en partículas de mayor tamaño que AB y AG.

Si se comparan los resultados de este estudio con los de Komabayashi [67], éste obtuvo mediante PFIA-3000 y el modo HPF valores de circularidad superiores a $0,9 \pm 0,06$ para AB, AG y P. Además describió un grupo de partículas alargadas con menor circularidad formado, sobre todo, por partículas de óxido de bismuto [67]. En nuestro caso, la circularidad fue inferior y no se encontró el grupo de partículas alargadas descrito por Komabayashi [67].

En un estudio posterior, Komabayashi [68] determinó que la circularidad media de P fue de $0,76 \pm 0,14$. En este caso la circularidad se calculó como el cociente entre anchura y la longitud de partícula. Si se aplicara dicha fórmula a nuestros resultados, se obtendría que la circularidad para P sería de $0,675 \pm 0,106$. Por tanto, y a pesar de calcular la circularidad mediante otro método, nuevamente, Komabayashi [68] obtuvo una circularidad mayor para sus partículas de P que nosotros.

A pesar de haber obtenido valores de circularidad inferiores a Komabayashi [67, 68], nuestra metodología pudo, además, introducir sesgos al eliminar los picos de las partículas durante el proceso de erosión de las mismas mediante el programa de imagen FIJI. Esto traería consigo la obtención de perímetros más pequeños para cada partícula, ocasionando circularidades de mayor valor.

C. ADAPTACIÓN MTA-DENTINA

C.1. RESULTADOS

C.1.1. RESULTADOS DE LA ADAPTACIÓN MTA-DENTINA A NIVEL SUPERFICIAL

Al observar las 240 muestras con el microscopio óptico se clasificaron en 3 grupos: bien adaptadas, con gaps y hundido el MTA con respecto a la dentina (Figura 56).

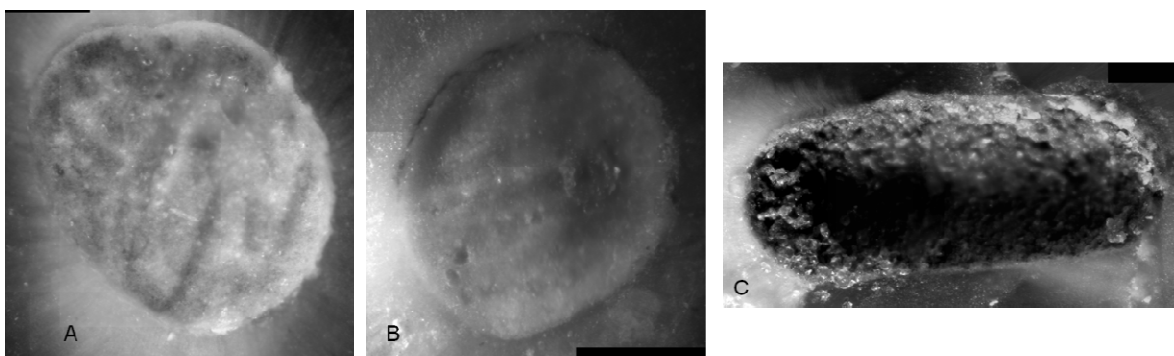


Figura 56. Ejemplos de la clasificación efectuada al observar las muestras con el microscopio óptico: bien adaptada (A); gap (B) y hundida (C).

Véase que en las muestras bien adaptadas, la dentina y el MTA están al mismo nivel, mientras que en las hundidas, el MTA se encuentra por debajo del nivel de la dentina, estando el MTA desenfocado. En las muestras con gap, se observa separación entre el MTA y la dentina.

Para continuar con el estudio, se tomaron todas las muestras con gap y hundidas y se seleccionaron un número de muestras bien adaptadas, quedando distribuidas de la manera que se muestra en la Tabla 34:

	Incisivos	Caninos	Premolares	Molares	Total
Gap	3	4	1	10	18
Hundidas	13	12	15	5	45
Buena adaptación	9	13	13	12	47

Tabla 34. Clasificación visual de las muestras.

C.1.1.1. Validación de la clasificación visual por un método cuantitativo

Para validar la efectividad de la clasificación visual realizada en el apartado 1.2.4 de “Adaptación MTA-dentina” para las muestras hundidas y bien adaptadas se calculó el estadístico Q a partir de las características estadísticas de los histogramas del MTA y la dentina en las imágenes de transiluminación (véase apartado 2c Material y Método de adaptación MTA-dentina).

$$Q = \frac{\text{desviación estándar del MTA}}{\text{media del MTA}} - \frac{\text{desviación estándar de la dentina}}{\text{media de la dentina}}$$

Cada una de estas fracciones se llama “coeficiente de variación del histograma”.

A partir de estos resultados se calculó el estadístico Kappa [283]. Esto supuso tomar el número de aciertos conseguidos menos el esperado por azar y dividirlo por el 100% de las observaciones restando el azar, obteniendo un valor Kappa de 0,75.

El valor Q que se determinó para diferenciar entre las muestras hundidas y bien adaptadas fue 0,255. El valor 0,255 se determinó para que se maximizase el valor de Kappa y, así, la clasificación automática se asemejase a la clasificación visual, pero con una medida más objetiva basada en el hundimiento real de la muestra. Un valor Q mayor a 0,255 supondría que el MTA estuviera hundido con respecto a la dentina; un valor de Q menor a 0,255 supondría que la adaptación sería la correcta, estando aproximadamente el cemento y la dentina al mismo nivel.

Según la clasificación Q, estaban hundidas 46 muestras y 47 bien adaptadas. Para las muestras hundidas se obtuvo un grado de coincidencia con la clasificación visual del 63,04%, mientras que para las bien adaptadas fue del 82,9%.

C.1.1.1.1. Efecto de los ultrasonidos en las muestras hundidas y bien adaptadas según la clasificación Q

Las muestras que según la clasificación Q estaban hundidas o bien adaptadas quedaron distribuidas como se muestra en la Tabla 35 en relación al tipo de MTA y uso o no de ultrasonidos:

	Hundidos	Bien adaptados
AB	7	13
AB+US	6	13
AG	11	10
AG+US	4	12
P	10	10
P+US	1	12

Tabla 35. Distribución de las muestras hundidas y bien adaptadas según la clasificación Q en relación al tipo de MTA y uso de ultrasonidos.

Las hipótesis nulas que se plantearon en referencia al efecto de los ultrasonidos en los distintos MTA aparecen en la Tabla 36:

Hipótesis nulas	G	P
Los ultrasonidos no influyen en que las muestras estén hundidas o bien adaptadas cuando se preparan con AB	0,02	0,881
Los ultrasonidos no influyen en que las muestras estén hundidas o bien adaptadas cuando se preparan con AG	1,261	0,261
Los ultrasonidos no influyen en que las muestras estén hundidas o bien adaptadas cuando se preparan con P	3,141	0,076
Los ultrasonidos no influyen en que las muestras estén hundidas o bien adaptadas cuando se preparan con cualquiera de los MTA (P+AG+AB)	2,753	0,097

Tabla 36. p-valores de las hipótesis en referencia a los distintos MTA y el uso de ultrasonidos.

C.1.1.1.2. Relación entre el tipo de diente y las muestras hundidas y bien adaptadas según la clasificación Q

Las muestras que según la clasificación Q estaban hundidas o bien adaptadas, quedaron distribuidas como se indica en la Tabla 37 en relación al tipo de diente:

	Hundidos	Bien adaptados
Incisivos	9	15
Caninos	14	15
Premolares	9	20
Molares	7	20

Tabla 37. Distribución de las muestras hundidas y bien adaptadas según la clasificación Q en relación al tipo de diente.

La hipótesis nula que se planteó en referencia al tipo de diente y su relación con que las muestras estuvieran hundidas o bien adaptadas aparece en la Tabla 38:

Hipótesis nula	G	P
El tipo de diente no influye en que las muestras sean hundidas o bien adaptadas	1,483	0,686

Tabla 38. p- valores de la hipótesis en referencia al tipo de diente y su relación con que las muestras estuvieran hundidas o bien adaptadas.

C.1.1.2. Muestras con gaps en superficie

Tras la inspección mediante un programa de visualización de las imágenes de transiluminación de las réplicas de silicona de las muestras hundidas, bien adaptadas y con gap, se comprobó lo siguiente:

- De las 18 muestras que visualmente se clasificaron como “gap”, en 12 de ellas se encontró el gap en las imágenes de transiluminación.

- De las 47 muestras que visualmente se clasificaron como “buena adaptación”, se encontró gap en 3 de ellas en las imágenes de transiluminación.
- De las 47 muestras que visualmente se clasificaron como “hundidas”, en ninguna de ellas se encontró gap en las imágenes de transiluminación.

El resultado total de muestras con gap superficial fueron 15.

C.1.1.2.1. Resultados descriptivos de los gaps en superficie

Si el cálculo de la **longitud de los gaps superficiales** se hiciera con las 240 muestras de las que se partió, considerando cero la no existencia de gap, la media y DE sería de $0,9\% \mu\text{m} \pm 4,8\% \mu\text{m}$.

Basándonos en lo observado en las imágenes de transiluminación, se encontraron 15 muestras con gap a nivel superficial. Los gaps se midieron mediante FIJI y se clasificaron en relación a su extensión angular medida desde el centro de la cavidad: 0° - 60° , 60° - 120° y 120° - 180° , quedando clasificado el número de muestras de la siguiente manera (Tabla 39):

	$0^\circ - 60^\circ$	$60^\circ - 120^\circ$	$120^\circ - 180^\circ$
AB	1	2	1
AB+US	3		2
AG		1	
AG+US	1	1	
P	1	1	
P+US	1		

Tabla 39. Distribución de las muestras con gap en transiluminación en relación al porcentaje de la extensión del gap, tipo de MTA y uso de ultrasonidos.

Si sólo se tienen en cuenta las muestras con gap, la longitud media y la DE de los gaps en las muestras preparadas con ultrasonidos fue de $22\% \pm$

15%, mientras que para las muestras preparadas sin ultrasonidos, la longitud media y DE de los gaps superficiales fue de $23\% \pm 12\%$. La diferencia de longitud de los gaps entre las muestras preparadas o no con ultrasonidos no fue estadísticamente significativa ($p>0,05$).

Si el cálculo de la **anchura de los gaps superficiales** se hace con las 240 muestras de las que se partió, considerando cero la no existencia de gap, la media y DE son $1,41 \mu\text{m} \pm 2,4 \mu\text{m}$.

Si sólo tienen en cuenta las muestras con gap, la anchura media de estos es de $9,8 \mu\text{m}$ con una DE de $4,25 \mu\text{m}$

Del total de las 15 muestras, la anchura máxima de los gaps superficiales fue de $21 \mu\text{m}$, mientras que la mínima fue de $3 \mu\text{m}$. El promedio entre ambas fue de $9,0 \mu\text{m}$.

La anchura media y DE de los gaps en las 8 muestras preparadas con ultrasonidos fue de $8,3 \pm 3,5 \mu\text{m}$. Para las 7 muestras preparadas sin ultrasonidos fue de $9,7 \pm 4,8 \mu\text{m}$. Esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p>0,05$).

El promedio de anchura por tipo de MTA (incluyendo muestras preparadas con y sin ultrasonidos) y su DE fue la siguiente:

- 9 muestras de AB: $9,0 \pm 4,8 \mu\text{m}$
- 3 muestras de AG: $8,5 \pm 3,1 \mu\text{m}$
- 3 muestras de P: $9,6 \pm 3,1 \mu\text{m}$

La diferencia entre las medias de las anchuras de los 3 tipos de MTA no resultó estadísticamente significativa ($p>0,05$).

C.1.1.2.2. Efecto de los ultrasonidos en las muestras con gaps

Las hipótesis nulas que se plantearon en referencia al efecto de los ultrasonidos en el MTA en las muestras con gap en las imágenes de transiluminación se recogieron en la Tabla 40:

Hipótesis nulas	G	P
Los ultrasonidos no influyen en que las muestras presenten gaps superficiales cuando se preparan con AB	1,757	0,415
Los ultrasonidos no influyen en que las muestras presenten gaps superficiales cuando se preparan con AG	0,704	0,703
Los ultrasonidos no influyen en que las muestras presenten gaps superficiales cuando se preparan con P	0,454	0,796
Los ultrasonidos no influyen en que las muestras presenten gaps superficiales se preparan con cualquiera de los MTA (P+AG+AB)	1,532	0,464

Tabla 40. p-valores de las hipótesis en referencia a los distintos MTA y el uso de ultrasonidos en las muestras con gap superficiales en las imágenes de transiluminación.

C.1.1.2.3. Efecto del tipo de diente en las muestras con gaps

Las muestras en las que se encontró gap en las imágenes de transiluminación quedaron distribuidas en relación al porcentaje de la extensión del gap y tipo de diente de la siguiente manera (Tabla 41):

	0° - 60°	60° - 120°	120° - 180°
Incisivos	1	2	0
Caninos	0	1	3
Premolares	1	1	0
Molares	5	1	0

Tabla 41. Distribución de las muestras con gap en transiluminación en relación al porcentaje de la extensión del gap y tipo de diente.

La hipótesis nula que se planteó en referencia al tipo de diente y la presencia de gaps en superficie en las muestras de transiluminación se recogió en la Tabla 42:

Hipótesis nula	G	p
El tipo de diente no influye en el porcentaje de contorno MTA-dentina ocupado por gap	6,434	0,376

Tabla 42. p-valor de las hipótesis en referencia al tipo de diente y presencia de gaps en superficie en las imágenes de trasiluminación.

C.1.2. RESULTADOS DE ADAPTACIÓN MTA-DENTINA EN PROFUNDIDAD

Las muestras que visualmente se clasificaron como hundidas, bien adaptadas o con gap, se cortaron longitudinalmente y se confeccionaron réplicas de silicona. A partir de sus imágenes de transiluminación, se determinó la presencia de gaps internos.

C.1.2.1. Resultados descriptivos de los gaps en profundidad

La **longitud media en µm de los gaps** por tipo de diente se recogió en la Tabla 43:

	Nº muestras	Promedio	DE	Error
Incisivos	40	0,49	0,29	0,04
Caninos	64	0,56	0,35	0,04
Premolares	44	0,54	0,29	0,04
Molares	35	0,68	0,32	0,05

Tabla 43. Longitud media en µm de los gaps en profundidad por tipo de diente.

Para determinar si hubo diferencia significativa ($p < 0,05$), se calculó para cada par de tipo de diente el estadístico S de la siguiente manera:

$$S = \frac{\text{Promedio de tipo de diente A} - \text{Promedio de B}}{\text{Error de A} + \text{Error de B}}$$

De esta manera, se construyó la Tabla 44, en la que aquellos valores superiores a 1 en valor absoluto, se consideraron estadísticamente significativos ($p < 0,05$):

	Incisivos	Caninos	Premolares	Molares
Incisivos		-0,78	-0,48	-1,81
Caninos			0,31	-1,14
Premolares				-1,42
Molares				

Tabla 44. Diferencias de longitudes medias de los gaps en profundidad normalizadas con la suma de errores estándar (estadístico S) por tipo de diente.

Así, se obtiene que existe una diferencia significativa ($p < 0,05$) para los molares en comparación al resto de tipos de dientes.

La longitud media en μm de los gaps por tipo de MTA fue la siguiente (Tabla 45):

	Nº muestras	Promedio	DE	Errores
AB	43	0,56	0,31	0,04
AB+US	36	0,57	0,34	0,05
AG	31	0,72	0,35	0,06
AG+US	21	0,54	0,28	0,06
P	28	0,48	0,27	0,05
P+US	24	0,48	0,33	0,06

Tabla 45. Longitud media en μm de los gaps por tipo de MTA y uso de ultrasonidos.

Al igual que en el caso del tipo de diente, se construyó la Tabla 46:

	AB	AB+US	AG	AG+US	P	P+US
AB		-0,07	-1,44	0,13	0,77	0,73
AB+US			-1,27	0,19	0,77	0,74
AG				1,39	2,05	1,86
AG+US					0,53	0,53
P						0,06
P+US						

Tabla 46. Estadístico S de las longitudes medias de los gaps en profundidad por tipo de MTA y uso de ultrasonidos.

De esta manera se encontró que existía diferencia significativa ($p < 0,05$), entre AG-AB; AG-AB+US; AG-AG+US; AG-P y AG-P+US.

Si no se tuvieran en cuenta los ultrasonidos y se juntaran todos los resultados por MTA, la longitud en μm sería la siguiente (Tabla 47):

	Nº muestras	Promedio	DE	Error
AB y AB+US	79	0,56	0,32	0,03
AG y AG+US	52	0,65	0,33	0,04
P y P+US	52	0,48	0,29	0,04

Tabla 47. Longitud media en μm de los gaps por tipo de MTA.

Nuevamente, se confeccionó la Tabla 48 para estudiar las posibles diferencias entre los MTA:

	AB y AB+US	AG y AG+US	P y P+US
AB y AB+US		-1,03	1,07
AG y AG+US			1,93
P y P+US			

Tabla 48. Estadístico S de las longitudes medias de los gaps en profundidad por tipo de diente.

Se obtuvo diferencia significativa para P en comparación con AB y AG.

La **anchura media en μm de los gaps** en profundidad por tipo de MTA se expone en la Tabla 49:

	Promedio	DE	Error
AB	15,66	8,62	0,73
AG	15,81	8,20	0,91
P	13,95	7,30	0,73

Tabla 49. Anchura media de los gaps en profundidad.

El cálculo de la tabla del estadístico S quedó de la siguiente manera (Tabla 50):

	AB	AG	P
AB		-0,08	1,15
AG			1,12
P			

Tabla 50. Estadístico S de las longitudes medias de los gaps en profundidad por tipo de MTA.

La anchura media de los gaps de P fue significativamente más pequeña que en AG y AB ($p < 0,05$).

Sin embargo, al comparar la anchura media de los gaps en relación al tipo de diente, no existió diferencia significativa entre los grupos ($p > 0,05$).

C.1.2.2. Presencia de gaps en relación al tipo de MTA y uso de ultrasonidos

La distribución de los gaps existentes en las muestras cortadas en relación al tipo de MTA y uso de ultrasonidos fue el siguiente (Tabla 51):

	con gap	sin gap
AB	34	54
AG	33	47
P	21	57
AB+US	27	47
AG+US	18	36
P+US	18	36

Tabla 51. Distribución de los gaps en relación al tipo de MTA y uso de ultrasonidos.

Las hipótesis nulas que se plantearon se recogieron en la Tabla 52:

Hipótesis nulas	G	p
P y AG son iguales en referencia a la existencia de gaps	1,58	0,209
AB y AG son iguales en referencia a la existencia de gaps	0,05	0,81
P y AB son iguales en referencia a la existencia de gaps	1,12	0,289
P+US y AG+US son iguales en referencia a la existencia de gaps	0	1
AB+US y AG+US son iguales en referencia a la existencia de gaps	0,06	0,807
P+US y AB+US son iguales en referencia a la existencia de gaps	0,06	0,807
AB y AB+US son iguales en referencia a la existencia de gaps	0,03	0,852
AG y AG+US son iguales en referencia a la existencia de gaps	0,37	0,54
P y P+US son iguales en referencia a la existencia de gaps	0,27	0,602
Los ultrasonidos no afectan a la presencia de gaps en las muestras cortadas	0,059	0,807

Tabla 52. Hipótesis nulas en relación al tipo de MTA, uso de ultrasonidos y presencia de gaps.

C.1.2.3. Presencia de gaps en relación al tipo de diente

La distribución de los gaps en relación al tipo de diente fue la siguiente (Tabla 53):

	con gap	sin gap
Incisivos	29	65
Caninos	55	59
Premolares	37	73
Molares	30	70

Tabla 53. Distribución de los gaps en relación al tipo de diente.

La hipótesis nula que se planteó en referencia al tipo de diente y la presencia de gaps en las muestras cortadas se recogió en la Tabla 54:

Hipótesis nula	G	p
El tipo de diente no influye en la presencia de gaps en las muestras cortadas	0,078	0,779

Tabla 54. Hipótesis nula en relación al tipo de diente y presencia de gaps.

C.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

C.2.1. PUNTOS DE INTERÉS EN LA METODOLOGÍA EMPLEADA

El objetivo de esta investigación fue comparar la capacidad de sellado entre **3 tipos de MTA**, mientras que la mayoría de los estudios anteriores buscan comparar la capacidad de sellado de un MTA en relación a otros materiales dentales [97-99, 109, 284].

Dentro de la comparación de la capacidad de sellado de los MTA, se introdujo la variable “**uso de ultrasonidos**” durante la fase de condensación

del cemento con el fin de evaluar cómo afecta a la adaptación del éste a la dentina. Ésta no es una práctica demasiado extendida y se planteó la posibilidad de que pudiera mejorar la capacidad de adaptación del MTA a la dentina [4, 12, 15].

Con el fin de estudiar la capacidad de sellado MTA-dentina en varios planos, se decidió evaluar la adaptación del cemento tanto a nivel **superficial** como en **profundidad**.

Al igual que en la mayoría de las publicaciones revisadas [97-99, 109, 284, 285], se estudió la adaptación del MTA-dentina a nivel **apical**. Sin embargo, dadas las numerosas aplicaciones del MTA, se decidió estudiar, además, el sellado en la porción más **coronal** radicular. Para ello, se contó, con 240 muestras de las cuales 120 pertenecieron al tercio medio y 120 al tercio coronal radicular. Tales cifras fueron muy superiores a las utilizadas en las publicaciones revisadas [97-99, 109, 284-286].

Para poder obtener los tercios de radiculares así como para cortar las muestras verticalmente del estudio en profundidad de la adaptación MTA-dentina, se empleó una **cortadora mecánica**. Este hecho fue diferente al de las publicaciones en las que se usaron fresas de diamante montadas en turbina [97, 99, 109, 284, 285]. Cabe destacar la mayor calidad de corte de la propia cortadora en comparación con las fresas. Sin embargo, a la hora de cortar las muestras verticalmente para el estudio en profundidad de la adaptación MTA-dentina, si éstas eran muy pequeñas, resultó difícil ajustar la cuchilla para que atravesara el MTA justamente por el centro del mismo, debido, principalmente, al grosor de la propia cuchilla y a que ésta tenía cierto grado de oscilación. Como consecuencia, podría darse lugar a un mayor número de gaps y/o mayor extensión y anchura de los mismos, generándose falsos positivos.

En este estudio se trató de aproximar esta investigación a la práctica clínica en relación a la **irrigación y al pulido superficial del MTA**. Con respecto a la irrigación, se llevó a cabo según el protocolo de clínica: hipoclorito de sodio – EDTA – hipoclorito de sodio. De los estudios revisados, sólo en los

de Schipper [98] y Gundam [99] se empleó EDTA líquido al 17% una vez realizadas las cavidades. En referencia al pulido superficial de las muestras, y con el fin de no falsear la adaptación superficial MTA-dentina, se decidió no llevarlo a cabo. Sin embargo, en el caso de Schipper [98] y González-Losada [286] las muestras se pulieron superficialmente mediante discos de hasta 3000 Grit. Además, González-Losada [286], posteriormente, las pulió mediante polvo de diamante.

Las publicaciones en las que se emplearon imágenes de microscopía para el estudio de la adaptación MTA-dentina se emplearon SEM [97-99, 109, 284, 285], pues permiten obtener imágenes de gran calidad a diferentes aumentos [287]. Sin embargo, en este estudio la idea fue emplear **microscopía óptica** y beneficiarnos de sus oportunidades que ofrece frente al SEM como evitar someter a las muestras a vacío ni metalizarlas, poder obtener imágenes con mayor facilidad y emplear diferentes sistemas de iluminación.

Siendo conocedores de que el SEM aporta imágenes de mayor calidad, presenta mayor posibilidad de magnificación y que para la obtención de imágenes permite variar el zoom de los aumentos sin necesidad de mover la muestra, al querer emplear el microscopio óptico para el estudio de la adaptación MTA-dentina hubo que realizar una serie de ajustes en la metodología. Se eligió el objetivo x4 para recorrer con nitidez el contorno MTA-dentina de la muestra moviendo la platina y obteniendo una imagen de cada una de las zonas a estudiar. Con el fin de conseguir una única imagen que englobara todas las anteriores tomadas del contorno MTA-dentina, fue necesario emplear un script en el programa FIJI que permitió seleccionar puntos comunes en imágenes consecutivas y fusionarlas. Se podría haber empleado un objetivo que, de una sola vez, hubiese permitido observar la muestra a estudiar por completo, pero se habría perdido resolución en la imagen haciendo imposible discernir el tipo de adaptación entre MTA-dentina. Por tanto, podría decirse que el proceso de obtención de la imagen final resultó más laborioso en el caso de emplear el microscopio óptico que el SEM.

En referencia a los aumentos empleados para la visualización de las muestras con SEM en la bibliografía revisada, oscilaron entre x20 y x2000. En este estudio, al emplearse un microscopio óptico, podrían observarse gaps de un tamaño mínimo de 1 μm , que equivaldría a ver imágenes con el SEM a x50.

Una vez obtenidas las imágenes finales con cada uno de los tipos de iluminación y uso de réplicas, se tuvieron 3 tipos de imágenes a partir de las cuales estudiar a fondo la adaptación MTA-dentina. Las imágenes original y de reflexión plantearon dificultades en la interpretación al aparecer numerosas sombras; fueron, por tanto, las imágenes de transiluminación quienes, en caso de existir gaps, permitieron detectarlos y medirlos.

Tras el estudio de la adaptación del MTA-dentina se encontró un grupo en el cual el MTA estaba por debajo del nivel de la dentina y no se permitía discernir la existencia de gap, al que se denominó “muestras hundidas”. En este grupo, resultó especialmente complejo el enfoque con el microscopio óptico, puesto que al haber 2 alturas, la formación de sombras fue prácticamente imposible de evitar. La presencia del grupo de muestras “hundidas” no apareció recogida en ninguno de los artículos revisados [97-99, 109, 284, 285].

En esta investigación, **la medición de la anchura y longitud de los gaps** no se limitó a unos puntos concretos en el contorno MTA-dentina, si no que se estudió el contorno completo del mismo, tanto en profundidad como en superficie. Esto supuso que la cuantificación de los gaps fuese sistemática a diferencia de todos los estudios revisados [97-99, 109, 284, 285].

En las publicaciones [97-99, 109, 284, 285], los resultados de anchura y longitud de los gaps incluyeron tanto las muestras con gap como las que no los presentaban. En caso de no existir gap, tanto la anchura como la longitud, se consideraron cero. Este hecho provocó que los resultados de nuestras medidas aporten anchuras y longitudes de gaps observados mayores.

C.2.1.1. Diferencias entre las imágenes del SEM y microscopía óptica

A continuación se muestran 4 ejemplos de las imágenes de transiluminación de microscopía óptica empleadas para el estudio de los gaps en superficie y profundidad en este estudio (Figura 57).

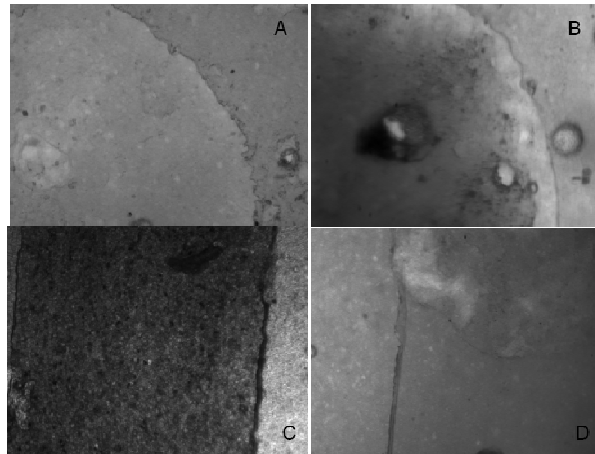


Figura 57. Ejemplos de gaps en superficie (A y B) y en profundidad (C y D).

Seguidamente se muestran algunas de las imágenes de SEM de las publicaciones revisadas a partir de las cuales se han efectuado las mediciones de anchura y longitud de los gaps.

Véase que en las 2 imágenes del estudio de Salem (Figura 58), al no haberse empleado réplicas, tanto la superficie del MTA, como la de la propia dentina aparecen cuarteadas. Estos artefactos harían, por tanto, imposible poder determinar si la presencia de gaps se debió al propio MTA o fue debida al vacío y metalizado de la muestra.

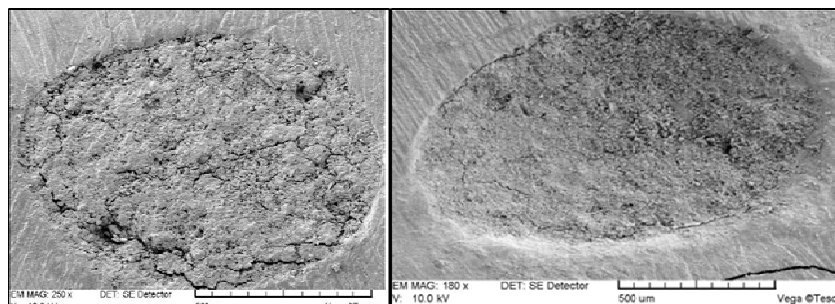


Figura 58. Imagen del SEM extraída del artículo de Salem [285].

La imagen del artículo de Gandolfi [92] pertenece a un fragmento de la adaptación de la muestra en la que se ve MTA y dentina (Figura 59). Resultaría complejo poder medir la anchura del gap sobre ella, puesto que ambas superficies no se encuentran a la misma altura. Dicha situación es similar a lo que ocurría en este estudio al tratar de medir en las imágenes originales de las muestras obtenidas mediante microscopio óptico.

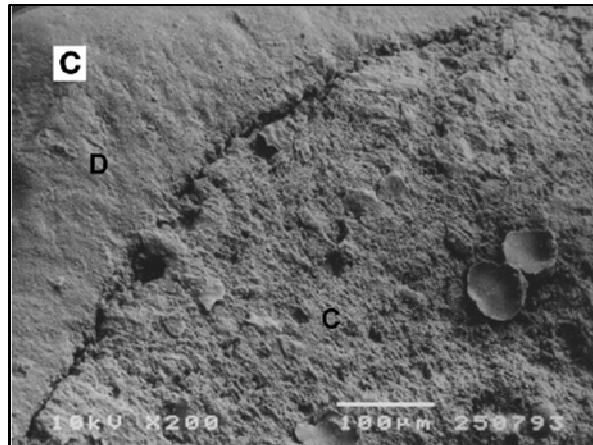


Figura 59. Imagen del SEM extraída del artículo de Gandolfi [92].

Las imágenes del estudio de Gundam [99] son las obtenidas a partir del SEM ambiental (Figura 60). La magnificación empleada fue de x50 en C1 y x2000 en C2 y C3. La calidad de las imágenes fue superior a las del resto de estudios efectuados con SEM [97, 98, 109, 284-286]. Además no fue necesario ni confeccionar réplicas, ni metalizar las muestras.

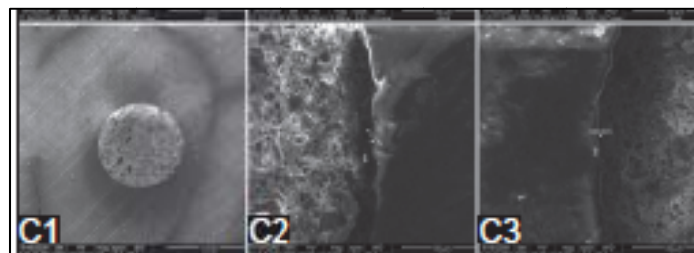


Figura 60. Imagen del SEM extraída del artículo de Gundam [99].

C.2.2. DISCUSIÓN DE LA ADAPTACIÓN MTA-DENTINA A NIVEL SUPERFICIAL

C.2.2.1. Eficacia de la clasificación visual

Las muestras de la investigación se clasificaron visualmente al observarlas con el microscopio óptico y tras estudiar las imágenes completas mediante FIJI, se buscó determinar la eficacia de dicha clasificación.

Para ello, se calculó el valor Q a partir de los histogramas del MTA y de la dentina de las imágenes de transiluminación. La elección de un umbral para Q permitió determinar el porcentaje de muestras que se clasificaron correctamente como hundidas o bien adaptadas tras la inspección visual. Para las muestras hundidas, se obtuvo un acierto de 63,04%, mientras que para las bien adaptadas el porcentaje de acierto fue de 82,9%. Los motivos por los que se pudo clasificar las muestras como hundidas, aunque realmente estaban bien adaptadas pudo deberse a la presencia de sombras en la imagen original, que la imagen de transiluminación estuviera sucia, a que hubiese burbujas en la silicona o a una diferente percepción visual del grado de hundimiento en la inspección visual.

A partir de los porcentajes, se calculó el estadístico Kappa [283] y se obtuvo el valor 0,75. Según el artículo de Landis y Koch [283], el índice Kappa se clasifica en:

- Resultados entre 0-0,2: coincidencia ligera.
- Resultados entre 0,2-0,4: regular.
- Resultados entre 0,4-0,6: correlación moderada.
- Resultados entre 0,6-0,8: correlación sustancial y/o buena.
- Resultados entre 0,8-1: correlación casi perfecta.

Por ello, con el resultado obtenido en este estudio podrían considerarse que éstos poseen correlación sustancial y/o buena. Podría decirse, por tanto,

que el método visual que se empleó para hacer el primer cribado de las muestras fue correcto.

C.2.2.2. Estudio de la adaptación MTA-dentina a nivel superficial

En relación a la clasificación Q para las muestras que se clasificaron como hundidas y bien adaptadas, ninguna de las variables barajadas (tipo de diente, uso de ultrasonidos, tipo de MTA) fue estadísticamente significativa ($p > 0,05$). Sin embargo, para la variable de los ultrasonidos, P presentó un p-valor de 0,076 y AB de 0,081, mientras que para AG el valor p fue de 0,261. Esta situación, aun no siendo significativa la diferencia ($p > 0,05$), podría indicar que los ultrasonidos pudieran afectar más a P y AB que a AG.

Con respecto a la presencia de gaps, empleando las imágenes de transiluminación de las réplicas de silicona de las muestras hundidas, con gap y las seleccionadas como bien adaptadas, se obtuvo lo siguiente:

- Grupo 1: de las 18 muestras que visualmente se clasificaron como “gap”, en 12 de ellas se encontró el gap en las imágenes de transiluminación.
- Grupo 2: de las 47 muestras que visualmente se clasificaron como “buena adaptación”, se encontró gap en 3 de ellas en las imágenes de transiluminación.
- Grupo 3: de las 47 muestras que visualmente se clasificaron como “hundidas”, en ninguna de ellas se encontró gap en las imágenes de transiluminación.

Con respecto al grupo 1, se erró en 6 muestras en las que visualmente se determinó que había gap, pero realmente no fue así, ya que la silicona no penetró entre dentina y MTA. Esta situación pudo deberse a las limitaciones que supusieron la iluminación de la muestras que, en muchas ocasiones generaron sombras que parecían gaps e, incluso, el hecho de que el MTA y la

dentina fuesen de diferentes colores, también pudo inducir a error al observar y examinar las muestras originales.

En el grupo 2, el error en 3 muestras pudo deberse igualmente a la diferencias de color entre MTA y dentina. Véase que en el caso de las muestras bien adaptadas, no hubo diferencia de altura entre MTA-dentina y, por tanto, no existió la generación de sombras.

Quizás, lo que más sorprenda es el grupo 3. El hecho de no haber encontrado ningún gap en él puso de manifiesto el hecho de que el hundimiento del MTA podría generar tal distorsión del MTA-dentina, que no se fuese capaz de ver los gaps.

Además, con respecto a las muestras que presentaban gap, ni el tipo de diente, ni el uso de ultrasonidos resultó afectar de forma estadísticamente significativa ($p>0,05$) al resultado.

C.2.2.2.1. Discusión de la longitud de los gaps superficiales

Sumando los gaps encontrados mediante las imágenes de transiluminación, del total de las 240 muestras de las que se partió, se obtuvieron 15 muestras con gap a nivel superficial. Esto supuso que el 6,2% de nuestras muestras presentó gap superficial

Estos datos difieren de los publicados por Torabinejad [97] quien no encontró gaps en la superficie de las muestras preparadas con P gris y a los de González-Losada [286], quien de 30 muestras encontró gap en 8, suponiendo un 26% de muestras con gap.

De entre las 15 muestras con gap superficial, 7 de ellas habían sido preparadas sin ultrasonidos y 8 con ultrasonidos. Véase que el número total de muestras con gap superficial fue muy limitado, por lo que resultó complejo poder obtener con ellas diferencias significativas.

La longitud media de los gaps de este estudio fue de $14,4 \pm 13,5$ % de contorno (se indican media y DE). En las muestras con ultrasonidos, la longitud media del gap fue $22\% \pm 15\%$, mientras que en las muestras preparadas sin ultrasonidos ésta fue de $23\% \pm 12\%$. La diferencia entre las longitudes medias de los gaps no fue estadísticamente significativa ($p > 0,05$), por lo que el hecho de emplear ultrasonidos no influyó en mejorar la adaptación entre MTA-dentina.

Con respecto a la longitud de los gaps, González-Losada [286] en sus muestras que éstas medían en media y DE $4,33 \pm 3,00$ %. El motivo por el que se encontró un porcentaje tan reducido de gaps en su estudio podría deberse a que antes de confeccionar las réplicas de silicona que se introdujeron en el SEM, las muestras se pulieron con discos. Este procedimiento pudo dar lugar a la eliminación de la capa superficial del MTA-dentina y, por tanto, a la supresión de la porción que, en nuestro caso, fue el objeto de estudio.

Si se atiende a la distribución de la longitud de los gaps de este estudio, éstos se distribuyeron de la siguiente manera: 7 tuvieron una extensión entre 0° - 60° (menor a un 17% del contorno), 5 entre 60° - 120° (entre 17-33%) y 3 entre 120° - 180° (entre 33-50%). Las 3 muestras con gap de mayor extensión pertenecieron exclusivamente a AB. Podría decirse, por tanto, que en este estudio AB fue el MTA que tuvo longitudes de gap mayores, sin llegar a ser estadísticamente significativo ($p > 0,05$).

Salem [285] obtuvo que el porcentaje que abarcaban los gaps en las muestras expuestas a sangre fue: 1 muestra de menos de 25%, 4 muestras entre 26-50%, 4 muestras entre 51-75% y 1 muestra mayor a 76%. Para el grupo que se expuso a fluido tisular sintético, el porcentaje fue el siguiente: 8 muestras tuvieron gaps que abarcaban menos del 25%, 2 muestras abarcaron entre 26-50% y 1 muestra fue superior al 75%. Nótese, que la exposición del MTA a sangre generó gaps de longitud significativamente mayor que el fluido tisular sintético [285]. De hecho, es conocido que si el MTA se mezcla con sangre en vez de con agua destilada, no se generarán las estructuras

cristalinas de hidróxido de calcio que se esperan que se formen en las primeras fases del proceso de hidratación [78, 164-166, 285].

C.2.2.2.2. Discusión de la anchura de los gaps superficiales

De las 240 muestras iniciales, 15 presentaron gap. Si se considera que las 225 muestras sin gap, presentaron gap de 0 μm , se hablaría de que la media y error estándar del total de muestras (con y sin gap) sería de $0.56 \pm 0,11 \mu\text{m}$.

Si nos centramos únicamente en las 15 muestras con gap, la anchura media máxima de los mismos fue 21 μm , 3 μm el tamaño mínimo y el promedio fue de 9 μm . Para las 8 muestras preparadas con ultrasonidos la anchura media (se indica media y DE) fue de $8,3 \pm 3,5 \mu\text{m}$, mientras que en las 7 muestras preparadas sin ultrasonidos fue de $9,7 \pm 4,8 \mu\text{m}$. Nuevamente, la diferencia entre la anchura de ambos métodos no fue significativa ($p > 0,05$).

El tamaño medio y DE de nuestros gaps fue superior a los reportados en las publicaciones revisadas [109, 284, 285], a excepción del grupo de muestras del estudio de Salem [285] que se sumergieron en sangre durante el fraguado del AB. En este caso, todas las muestras presentaron gap cuyo tamaño medio y DE ascendió a $19,8 \pm 19,1 \mu\text{m}$.

Los tamaños medios más pequeños fueron los aportados por Ghobanzadeh [284] (incluyendo tanto las muestras con gap como las que no lo presentaron), que midió gaps en muestras preparadas con P de $1,14 \pm 1,35 \mu\text{m}$ a la semana de preparar las muestras y de $0,2 \pm 0,4 \mu\text{m}$ a los 2 meses. En su investigación, al igual que en la nuestra, no se encontraron diferencias significativas entre los 3 tipos de MTA estudiados ($p > 0,05$).

En el estudio de Salem [285] (incluyendo tanto las muestras con gap como las que no lo presentaron), las muestras sumergidas en fluido tisular sintético presentaron un tamaño medio y DE de $4,5 \pm 3,3 \mu\text{m}$ [285]. Sin

embargo, habría resultado interesante conocer los tamaños medios y DE de los gaps del estudio de Salem [285] habiendo empleado réplicas, pues seguramente éstos habrían presentado cifras inferiores a las publicadas.

Por último, el tamaño medio y DE de las muestras de P del estudio de Shoukouhinejad [109] (incluyendo tanto las muestras con gap como las que no lo presentaron), fueron $6,4 \pm 3,45 \mu\text{m}$.

Mención aparte merece el estudio de Gundam [99], pues empleó un ESEM. A priori los resultados aportados por su estudio deberían ser los más aproximados a la realidad, pues el ESEM no requiere metalizado ni alto vacío para poder obtener las imágenes de las muestras. El tamaño medio y DE (incluyendo tanto las muestras con gap como las que no lo presentaron) de los gaps que encontró para MTA (no se especifica cuál) fue de $0,722 \pm 0,438 \mu\text{m}$. Sorprende el hecho de que este valor sea ligeramente superior al obtenido por Schipper [98], (incluyendo tanto las muestras con gap como las que no lo presentaron) quien empleando un SEM no ambiental y bajo vacío, encontró obtuvo un tamaño medio de gap de $0,523 \pm 0,781 \mu\text{m}$ para MTA (no se especifica cuál). Sin embargo, Schipper [98] con ese mismo SEM, pero con alto vacío encontró que el tamaño medio de los gaps pasaba a ser de $1,19 \pm 1,421 \mu\text{m}$. Esta situación podría deberse a que podrían existir otros factores más importantes que el propio tipo de MTA y el tipo de SEM en que se generen gaps de una anchura u otra. De manera que, en aquellos casos en los que la DE de la distribución de tamaños es similar a la media, sugieren una distribución exponencial, en la que la probabilidad de encontrar un gap con una anchura dada disminuye con ésta; en aquellos otros en los que la DE es mayor que la media, serán frecuentes los gaps excepcionalmente grandes, que supondrían fracasos claros del tratamiento. Por último, cuando la DE es considerablemente menor que la media, existirá una anchura típica del gap y las muestras se distribuirán alrededor de ella.

C.2.2.3. Estudio de la adaptación MTA-dentina en profundidad

Al igual que en el estudio de las muestras en superficie, se visualizaron las muestras con el microscopio óptico y se obtuvieron los 3 tipos de imágenes: original, reflexión y transiluminación. En el caso de las muestras cortadas, al no existir desnivel entre el MTA y la dentina, la presencia de gaps fue fácilmente detectable en los 3 tipos de imagen. El único inconveniente que se mantuvo fue la posible presencia de varios colores en las imágenes de las muestras originales, que dificultaría la detección de desadaptación entre MTA-dentina. Por ello, de nuevo, a partir de las imágenes de transiluminación se estudió la presencia de gaps internos.

Dentro de las muestras que presentaron gap en profundidad, aunque no hubo diferencia significativa ($p=0,807$) para la variable ultrasonidos, la presencia de gaps fue mayor en las muestras preparadas sin ellos para todos los tipos de MTA. Cuando no se emplearon ultrasonidos, AB y AG presentaron más gaps (34 muestras en AB y 33 en AG) que P (21 muestras con gap). En el caso de las muestras con ultrasonidos, P y AG presentaron ambas 18 muestras con gap, mientras que en el caso de AB+US hubo 21 muestras con gap.

En cuanto al tipo de diente y su relación con los gaps, tampoco se encontraron diferencias significativas ($p=0,779$), aunque el mayor número de muestras con gap correspondió a los caninos (55 muestras con gap) en comparación con los incisivos (29 muestras con gap).

C.2.3.1.1. Discusión de la longitud de los gaps en profundidad

Dentro de las muestras con gap, la longitud media de los mismos en relación al tipo de diente fue estadísticamente significativa para los molares ($p<0,05$) quienes presentaron el tamaño medio de gap mayor siendo éste de $0,68 \pm 0,32 \mu\text{m}$ (se indica media y DE). En cambio, los incisivos presentaron la longitud más pequeña de gap con $0,49 \pm 0,29 \mu\text{m}$.

En cuanto al uso de ultrasonidos, se obtuvo diferencia significativa ($p < 0,05$), entre AG-AB; AG-AB+US; AG-AG+US; AG-P y AG-P+US. Sin embargo, si no se hubiesen tenido en cuenta los ultrasonidos, sólo habría habido diferencia significativa ($p < 0,05$) de P en relación a AB y AG.

C.2.3.1.2. Discusión de la anchura de los gaps en profundidad

Nuestras muestras con gap, presentaron una anchura media de gap en profundidad para AB de $15,66 \pm 8,62 \mu\text{m}$, para AG de $15,81 \pm 8,20 \mu\text{m}$ y para P de $13,95 \pm 7,30 \mu\text{m}$.

En este caso, ni los ultrasonidos ($p > 0,05$), ni el tipo de diente ($p > 0,05$) influyeron en la anchura de los de gaps. Sin embargo, en cuanto al tipo de MTA, P presentó gaps en media estadísticamente más estrechos ($p < 0,05$) que AG y AB.

Véase que al cortar las muestras, la anchura de los gaps aumentó en comparación con la anchura de los gaps en la superficie de las muestras. Como ya se ha comentado, esta situación pudiera deberse al proceso de corte de las muestras mediante la cortadora mecánica y la oscilación de la cuchilla.

Al comparar con otras publicaciones, encontramos que sólo en nuestro caso se ha empleado microscopía óptica y que, en comparación con los estudios con SEM, nuestros gaps son siempre de mayor tamaño.

Torabinejad [97] y Shoukhouhinejad [109] (incluyendo tanto las muestras con gap como las que no lo presentaron) obtuvieron resultados similares para la anchura de gap en profundidad: $2,68 \pm 1,35 \mu\text{m}$ para P gris para el primero y $2,1 \pm 1,18 \mu\text{m}$ para P en el segundo. Valores muy inferiores encontró Ghobanzadeh [284] quien, a los 2 meses de fraguado de P obtuvo como anchura media de los gaps $0,63 \pm 1,11 \mu\text{m}$, mientras que a nivel superficial encontró una anchura de $0,2 \pm 0,4 \mu\text{m}$. Quizás estas cifras tan favorables pudieran deberse a que las muestras se sumergieron en fluido tisular sintético

[284]. La interacción del MTA con fluido tisular sintético, que contiene, fosfato, supone la formación de cristales de apatita [126, 185]. Los iones calcio liberados por el MTA, reaccionan con fosfato del fluido tisular sintético, formando hidroxiapatita [126] o apatita carbonatada [150, 185]. Esta situación daría lugar a un mecanismo por el cual se redujera la filtración y, por tanto, a que se generaran menos gaps y/o gaps de menor tamaño [185]. A este proceso se le llama biomineralización [184, 185].

Al igual que Torabinejad [97], consideramos que la zona por la que se cortan las muestras puede ser determinante en encontrar o no gap en profundidad. De hecho, una muestra puede tener buena adaptación en un plano, pero no en toda la muestra [97, 109].

D. CAMBIO DE COLOR DEL MTA

D.1. RESULTADOS

D.1.1. RESULTADOS DE CAMBIO DE COLOR DEL MTA A NIVEL SUPERFICIAL

Los resultados de cambio de color obtenidos de las muestras a nivel superficial aparecen en la Tabla 55:

	Nº muestras	Tratamiento	Nº muestras	Clase dental	Nº muestras	blancos	gris claro	gris	gris oscuro	Negro
AB	80	Ultrasonidos	40	incisivos	10	6	2	2	0	0
				caninos	10	1	3	2	2	2
				premolaes	10	10	0	0	0	0
				molaes	10	3	2	2	3	0
		sin ultrasonidos	40	incisivos	10	1	1	3	3	2
				caninos	10	0	1	7	1	1
				premolaes	10	2	6	1	1	0
				molaes	10	1	0	2	5	2
AG	77	Ultrasonidos	37	incisivos	7	0	0	3	2	5
				caninos	10	0	0	6	3	1
				premolaes	10	0	0	7	3	0
				molaes	10	0	0	4	5	1
		sin ultrasonidos	40	incisivos	10	0	1	7	2	0
				caninos	10	0	1	4	4	1
				premolaes	10	0	0	7	3	0
				molaes	10	0	0	7	2	1
P	80	Ultrasonidos	40	incisivos	10	4	3	1	2	0
				caninos	10	2	0	0	4	4
				premolaes	10	0	3	4	2	1
				molaes	10	3	3	1	2	1
		sin ultrasonidos	40	incisivos	10	1	4		3	2
				caninos	10	1	1	4	4	0
				premolaes	10	0	2	3	4	1
				molaes	10	0	1	6	1	2

Tabla 55. Los resultados de cambio de color obtenidos de las muestras estudiadas sin cortar.

Las hipótesis estudiadas y su significación estadística para el cambio de color de las muestras estudiadas se muestran en la Tabla 56:

Hipótesis nulas	G	p
AG no cambia de color aplicando ultrasonidos	2,796	0,592
AB no cambia de color aplicando ultrasonidos	7,548	0,109
P no cambia de color aplicando ultrasonidos	3,384	0,495
AB y P son igual de blancos sin aplicar ultrasonidos	0,374	0,984
AB y P son igual de blancos aplicando ultrasonidos	3,614	0,46
AB y AG son igual de blancos sin aplicar ultrasonidos	6,254	0,174
AB y AG son igual de blancos aplicando ultrasonidos	22,587	0,0001
AG y P son igual de blancos sin aplicar ultrasonidos	5,148	0,272
AG y P son igual de blancos aplicando ultrasonidos	14,495	0,0058
El tipo de diente no afecta al color del AB sin ultrasonidos	11,647	0,474
El tipo de diente no afecta al color del AB con ultrasonidos	13,115	0,36
El tipo de diente no afecta al color del AG sin ultrasonidos	3,347	0,992
El tipo de diente no afecta al color del AG con ultrasonidos	5,087	0,955
El tipo de diente no afecta al color del P sin ultrasonidos	8,192	0,769
El tipo de diente no afecta al color del P con ultrasonidos	6,229	0,904

Tabla 56. p-valores de las hipótesis en referencia al cambio de color de muestras sin cortar.

Las hipótesis en las que se obtiene una $p < 0,05$ son en las que se plantea que AB-AG y AG-P son igual de blancos al aplicarles los ultrasonidos, por lo que las hipótesis alternativas, es decir, que la reflectividad AB y AG y AG-P es diferente cuando se aplican ultrasonidos se puede tomar como verdadera a un nivel de significación del 0,05.

Para ambos casos, se muestran las tablas de contingencia (Tablas 57-58) que se elaboraron a partir de los datos de la Tabla 56.

	blanco	gris claro	gris	gris oscuro	negro
AB	20	7	6	5	2
AG	0	0	20	13	7

Tabla 57. Tabla de contingencia de AB y AG con ultrasonidos.

Se obtuvo una $G=22,587$; la $p=0,00015$ (4 grados de libertad).

	blanco	gris claro	gris	gris oscuro	negro
P	9	9	6	10	6
AG	0	0	20	13	7

Tabla 58. Tabla de contingencia de AG y P con ultrasonidos.

Se obtuvo una $G=14,495$; la $p=0,00587$ (4 grados de libertad).

Los resultados que se obtienen de comparar el color inicial y final de cada cemento se muestran en la Tabla 59:

		variación de la reflectividad	DE	% muestras que aclaran su color al fraguar
AB	ultrasonidos	-0,0604	0,1476	46
	sin ultrasonidos	-0,2175	0,1688	14
AG	ultrasonidos	-0,0096	0,0976	47
	sin ultrasonidos	0,0304	0,1033	63
P	ultrasonidos	-0,3958	0,2033	0
	sin ultrasonidos	-0,4216	0,1789	0

Tabla 59. Variación de la reflectividad por tipo de MTA y tratamiento.

El porcentaje de muestras que aclararon su color al fraguar se calculó de la siguiente manera:

$$\frac{n^{\circ} \text{ muestras de cada tipo de MTA que tienen reflectividad superior a la del MTA inicial}}{n^{\circ} \text{ total de muestras de ese tipo de MTA para el tratamiento}}$$

En caso de obtener resultados negativos, suponen que el cemento se oscurece al fraguar. Los resultados positivos indican que el cemento se aclara al fraguar. Véase que las desviaciones estándar describen como parte de las muestras de un MTA pueden tener cambios positivos y otros negativos.

D.1.2. RESULTADOS DE CAMBIO DE TEXTURA DEL MTA EN PROFUNDIDAD

Los resultados obtenidos de las muestras estudiadas en profundidad se recogen en la Tabla 60:

	Nº Muestras	Tto	Nº muestras	Clase dental	Nº muestras	1 color	2 colores	3 Colores	4 Colores	palmera	mármol	concéntrico
AB	152	us	74	I	17	11	1	4	1	0	0	0
				C	20	2	6	10	0	0	2	0
				P	19	19	0	0	0	0	0	0
				M	18	0	11	2	0	3	2	0
		sin us	78	I	20	5	8	5	0	1	1	0
				C	19	1	10	6	0	0	1	1
				P	20	5	10	0	0	0	0	5
				M	19	1	5	7	0	3	2	1
AG	149	us	70	I	15	2	3	0	0	1	5	4
				C	18	6	5	1	0	0	5	1
				P	19	8	3	0	0	0	2	6
				M	18	4	3	6	0	0	4	1
		sin us	79	I	20	0	13	7	0	0	0	0
				C	20	3	13	1	0	1	1	1
				P	20	6	7	1	0	0	2	4
				M	19	3	7	3	0	2	2	2
P	156	us	77	I	19	7	0	0	0	2	1	9
				C	20	7	1	0	0	1	9	2
				P	19	1	5	1	0	0	4	8
				M	19	12	2	1	0	1	1	2
		sin us	79	I	20	4	9	2	0	3	0	2
				C	20	6	3	1	0	6	3	1
				P	20	0	6	2	0	3	2	7
				M	19	0	3	2	0	4	2	8

Tabla 60. Los resultados obtenidos de las muestras estudiadas cortadas. (Tto: tratamiento; us: ultrasonidos; I: incisivos; C: caninos; P: premolares; M: molares).

Las hipótesis estudiadas y su significación estadística para cambio de textura de las muestras estudiadas se muestran en la Tabla 61:

Hipótesis nulas	G	P
Las texturas de AB no cambian aplicando ultrasonidos	10,926	0,091
Las texturas de P no cambian aplicando ultrasonidos	12,154	0,059
Las texturas de AG no cambian aplicando ultrasonidos	10,553	0,103
El tipo de diente no afecta a la textura de AB sin ultrasonidos	15,757	0,61
El tipo de diente no afecta a la textura del AB con ultrasonidos	37,504	0,005
El tipo de diente no afecta a la textura de P sin ultrasonidos	14,833	0,673
El tipo de diente no afecta a la textura de P con ultrasonidos	19,109	0,385
El tipo de diente no afecta a la textura de AG sin ultrasonidos	14,438	0,7
El tipo de diente no afecta a la textura de AG con ultrasonidos	12,54	0,818
Las texturas de AB y AG no se diferencian sin ultrasonidos	0,924	0,988
Las texturas de AB y AG no se diferencian aplicando ultrasonidos	14,584	0,024
Las texturas de P y AG no se diferencian sin ultrasonidos	9,833	0,132
Las texturas de P y AG no se diferencian aplicando ultrasonidos	4,238	0,645
Las texturas de P y AB no se diferencian sin ultrasonidos	9,304	0,157
Las texturas de P y AB no se diferencian aplicando ultrasonidos	22,509	0,001

Tabla 61. p-valores de las hipótesis estudiadas para el cambio de textura de muestras cortadas.

Las hipótesis nulas en las que se obtiene un $p < 0,05$, son en las que se plantea que AB-P forman las mismas texturas con ultrasonidos, el tipo de diente no afecta a la textura del AB con ultrasonidos, las texturas de AB y AG no se diferencian aplicando ultrasonidos y las texturas de P y AB no se diferencian aplicando ultrasonidos. Para cada una de ellas, se muestra, a continuación, su tabla de contingencia (Tablas 62-64):

	1 color	2 colores	3 colores	4 colores	palmera	Mármol	concéntrico
AB	32	18	16	1	3	4	0
P	27	8	2	0	4	15	21

Tabla 62. Tabla de contingencia de AB y P con ultrasonidos.

Se obtuvo una $G = 23,509$ y $p = 0,001$ (6 grados de libertad).

	1 color	2 colores	3 colores	4 colores	palmera	mármol	concéntrico
AB	32	18	16	1	3	4	0
AG	20	14	7	0	1	16	12

Tabla 63. Tabla de contingencia de AB y AG no se diferencian con ultrasonidos.

Se obtuvo una $G = 14,584$ y $p = 0,024$ (6 grados de libertad).

	1 color	2 colores	3 colores	4 colores	palmera	mármol	concéntrico
Incisivos	11	1	4	1	0	0	0
Caninos	2	6	10	0	0	2	0
Premolares	19	0	0	0	0	0	0
Molares	0	11	2	0	3	2	0

Tabla 64. Tabla de contingencia del tipo de diente no afecta a la textura de AB con ultrasonidos.

Se obtuvo una $G = 37,504$ y $p = 0,005$ (18 grados de libertad).

D.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

D.2.1. PUNTOS DE INTERÉS DE LA METODOLOGÍA EMPLEADA

El estudio del cambio de color del MTA por el empleo de **ultrasonidos** en la condensación del cemento, no ha sido investigado hasta la fecha. Se consideró una variable a tener en cuenta pues podría llegar a disgregar las partículas de polvo de MTA y dar lugar a mayor o menor cambio de color en el cemento.

Se decidió estudiar el cambio de color de **3 tipos de MTA**: AB, AG y P. Se contó, por tanto, con dos cementos de color blanco y uno de color gris. Se incluyó un cemento gris, pues se desconocía el efecto que pudieran tener los ultrasonidos en el color de un MTA oscuro.

Se estudió el cambio de color a nivel **superficial** como en **profundidad**. Para ello fue necesario cortar las muestras mediante una cortadora mecánica. El estudio en profundidad de la textura de color del MTA no ha sido realizado hasta la fecha por otros autores, por lo que la clasificación de las mismas ha sido descrita en este estudio por primera vez.

El número de muestras empleado en este estudio fue de **237 muestras** para el estudio del color en superficie y de **478 muestras** para el estudio de la textura en profundidad. Estas cifras fueron superiores a las empleadas en otros estudios acerca del cambio de color del MTA [13, 14, 33-50, 60, 265]. Además, las muestras de este estudio pertenecieron a **dientes humanos** (incisivos, caninos, premolares y molares) y se emplearon tanto el tercio superior como el tercio medio radicular.

El **proceso de irrigación** de que se siguió antes de colocar el MTA en las cavidades fue: hipoclorito de sodio 2,5% durante 1 minutos, EDTA al 17% durante 3 minutos y, de nuevo, hipoclorito de sodio al 2,5% durante 1 minuto, pues se considera el adecuado para eliminar el *E.faecalis* [288]. Este método

de irrigación se asemejó al utilizado por Marciano [35], Lehnerr [46] y Felman [41]. En el resto de estudios, no se lavó la cavidad previamente a colocar el MTA [13, 14, 33, 34, 37-40, 42-45, 47-49, 265, 289].

En los estudios revisados de cambio de color del MTA se emplearon, mayoritariamente, espectrofotómetros [13, 14, 34-36] y exámenes visuales [37, 38, 265] para la determinación del color. Sin embargo, en nuestro caso, se usaron **imágenes digitales** obtenidas con una cámara fotográfica y se analizaron mediante un programa de análisis de imagen. Recordemos, que la diferencia de color se calcularía de la siguiente manera [13]:

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

La cámara permitió obtener ΔL^* , que se corresponde con el brillo de la imagen y, puesto que las variaciones de brillo del MTA eran muy aparentes, se asumió que Δa^* y Δb^* serían prácticamente cero. El nuestro fue, por tanto, un método sencillo que permite la obtención de histogramas donde se representan gráficamente los distintos niveles de gris de una imagen.

D.2.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

D.2.2.1. Estudio del color del MTA a nivel superficial

Se obtuvo que si no se aplicaban ultrasonidos, sería imposible identificar cada uno de los MTA ($p=0,984$ para AB y P; $p=0,174$ para AB y AG; $p=0,272$ para AG y P). En cambio, el uso de ultrasonidos, supuso que no se pudiera diferenciar el color final entre los MTA blancos ($p=0,46$ para AB y P), pero sí discernir significativamente entre AB-AG ($p=0,001$) y P-AG ($p=0,0058$). Este cambio de color no dependió en ningún caso del tipo de diente en el que fraguó el MTA. Por tanto, sí pudiera haber efecto de los ultrasonidos en los MTA, pues al aplicarlos se ayudó a mantener el color original de cada uno de los cementos.

Al comparar el cambio de color de cada uno de los MTA fraguados en un molde aislado con su color final fraguado en el diente, se obtuvo que AG fue, en promedio, más claro en la superficie de la cavidad dentinaria que en un molde aislado. El 63% de las muestras no tratadas con ultrasonidos resultaron más claras que el molde, frente a un 43% de las muestras tratadas con ultrasonidos. Esta variación fue muy pequeña en ambos casos, del orden del 1%.

En el caso de los MTA blancos, existió una variación apreciable de la reflectividad. El 46% de las muestras de AB preparadas con ultrasonidos resultaron más claras que el molde aislado, aunque, de nuevo, esa variación fue despreciable. Sólo el 14% de las muestras preparadas sin ultrasonidos aclaró su color y, en media, la reflectividad de estas muestras se redujo en un 22% respecto al molde.

En P, ninguna de las muestras aclaró su color respecto al molde y la reflectividad se redujo tanto con ultrasonidos como con ellos, en torno a un 40% respecto al molde.

Según lo obtenido, P fue el MTA que más varió su color final, aplicándole o no ultrasonidos. Esta situación podría deberse más a las propias características de la homogeneidad el polvo y a su diferente composición con respecto a AB y AG [3, 4, 26-29].

D.2.2.2. Estudio de las texturas del MTA en profundidad

Ante la falta de publicaciones en las que se describa el color que adquiere el MTA fraguado en profundidad, se planteó la posibilidad de cortar transversalmente las 237 muestras y estudiar las texturas de color presentes. Así, se encontró que si se comparaban los resultados por separado de cada uno de los MTA preparados o no con ultrasonidos, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$). Sin embargo, cabe destacar, el hecho de

que para P se obtuvo un $p=0,059$ al comparar la textura preparada con y sin ultrasonidos. Esto supondría que a P el hecho de aplicar ultrasonidos pueda afectarle más que a AB y AG.

Las diferencias surgieron al comparar entre los MTA ante el uso de ultrasonidos.

Resultó peculiar el hecho de que si nos basáramos en que la composición entre los MTA gris y blanco, pudiera influir en las texturas finales fraguadas que forman los MTA, encontraríamos sólo diferencia significativa si se aplicaban ultrasonidos entre AB-AG ($p=0,024$), pero no para P-AG ($p=0,645$). De hecho, AB y P fraguados presentaron texturas completamente diferentes ($p=0,001$), aún siendo cementos blancos inicialmente.

Por tanto, las texturas que adoptó P fraguado tras haberle aplicado ultrasonidos, tendieron a parecerse más a las texturas de AG con ultrasonidos que a AB. Esta situación haría que si se aplicara ultrasonidos a P y AG, una vez fraguados, formarían texturas indistinguibles.

Con respecto a que el tipo de diente pudiera afectar a la textura del MTA fraguado, se encontró que sólo los resultados del AB con ultrasonidos fueron significativamente dependientes del tipo de diente ($p=0,005$). Este resultado podría deberse al hecho de que todos los premolares preparados con AB y ultrasonidos, al fraguar, resultaron ser blancos.

Dentro del apartado del estudio del color en profundidad, habría que describir las diferentes texturas que adopta el MTA una vez fraguado. Los grupos más frecuentes para cada uno de los tipos de MTA preparados sin ultrasonidos fue el de “2 colores” (Figura 61). Para los 3 tipos de MTA, la definición “2 colores” supuso que la parte superior del mismo, la cual estaría en contacto con el oxígeno ambiental, fuese una franja pequeña de color más claro que el resto del MTA. Llamó la atención que esta situación sucediera incluso para AG, en el cual la porción superior siempre fue más clara que la inferior.



Figura 61. Ejemplo de “2 colores”.

Al aplicar ultrasonidos, el grupo más frecuente para cada uno de los tipos de MTA fue el de “1 color”, ya fuese un único color claro u oscuro. Llama la atención el hecho de que para los AB y AG “1 color” supuso que para el blanco la totalidad fuesen claras y para el gris fuesen oscuras. Pero en el caso de P, “1 color” pudo suponer que las muestras fuesen claras u oscuras. Según estos resultados, a AB los ultrasonidos le ayudaron a mantener su color original blanco.

Quizás las diferencias más apreciables estuvieran en las categorías “palmera”, “mármol” y “concéntrico”. Aparentemente, estas texturas podrían ser más frecuentes en las muestras preparadas con ultrasonidos, pues al disgregarse más las partículas de cemento podrían dar lugar a estas distribuciones. Planteamos que, a pesar de haber aplicado a todos los MTA por igual, en función del grado de afectación de sus partículas, se daría lugar a una de estas 3 texturas. Así, en caso de haberse disgregado todas las partículas por igual, se obtendría la textura “mármol”; si se hubiesen disgregado más las partículas que integraban el centro de la cavidad, surgiría la textura “concéntrica” y, finalmente, si la disgregación hubiese sido completamente desigual, nos encontraríamos ante la textura “palmera”.

La premisa de que las categorías “palmera”, “mármol” y “concéntrico” fuesen más frecuentes en las muestras de MTA preparadas con ultrasonidos, se cumplió para AG y P. Sin embargo, sucedió todo lo contrario con AB, pues en el grupo preparado sin ultrasonidos, el número de muestras para estas categorías fue el doble que en el de las preparadas con ultrasonidos.

DISCUSIÓN GENERAL

Los resultados de esta tesis se pueden interpretar en un contexto clínico. Es por ello, por lo que plantea este tipo discusión.

La caracterización del los 3 tipos de MTA se ha subdividido en: manejo, composición, biocompatibilidad con los tejidos, biocompatibilidad mecánica, adaptación mecánica empleando ultrasonidos y cambio de color usando ultrasonidos. En la Figura 62, se muestra del desglose de cada una de estas subdivisiones e indicaciones y peculiaridades a tener en cuenta con cada uno de los MTA estudiados.

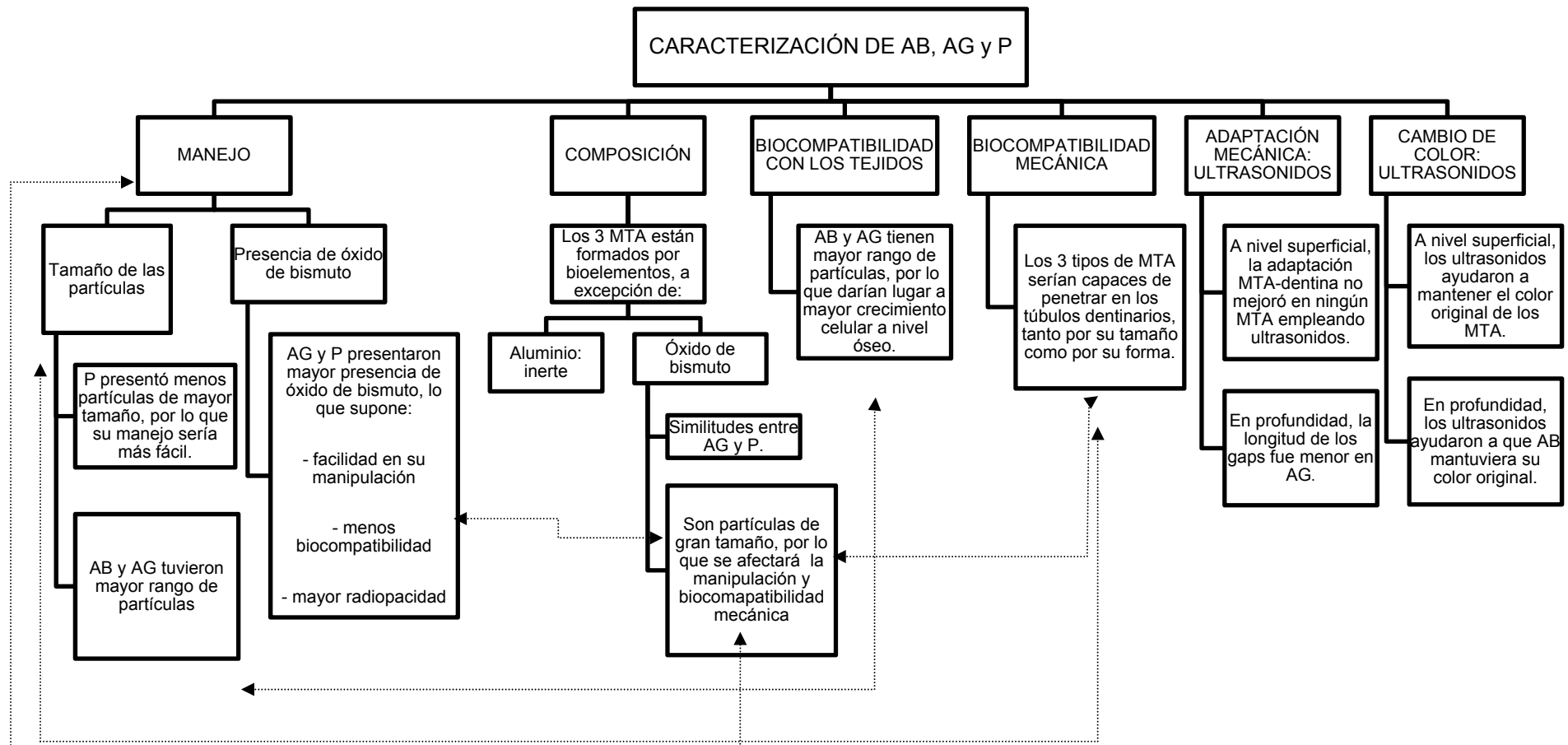


Figura 62. Proceso de clínico a considerar para el uso de cada uno de los MTA.

El **manejo del MTA** es complejo [24, 50, 64, 111, 113, 121, 152, 154, 158, 159]. Suele relacionarse con el tamaño de las partículas o agregados de éstas durante el batido del cemento. Ha de tenerse en cuenta, que los agregados se forman antes de su mezclado con agua destilada debido a su forma de almacenamiento en lugares con humedad.

De los 3 cementos estudiados, resultó que las partículas grandes de P son más pequeñas que las de AB y AG. Esto ocasionaría, un manejo más favorable de P al haber menos partículas de mayor tamaño.

Los elementos que formaron parte de la **composición de los 3 tipos de MTA** son bioelementos, a excepción del aluminio y el óxido de bismuto. Con respecto al primero, éste se considera inerte, por lo que la biocompatibilidad del MTA no se vería afectada debido a su presencia [290]. Sin embargo, el óxido de bismuto sí reduce la biocompatibilidad del MTA [125, 132-134], pero resulta imprescindible mantenerlo para aportar radiopacidad y facilitar su manipulación [2, 27, 54, 60, 131, 132]. Además, el tamaño de las partículas de óxido de bismuto medirá en los 3 tipos de MTA entre 10-30 μm [134], lo que les hará ser el grueso de las partículas de mayor tamaño que integren el MTA.

En este estudio, la proporción de óxido de bismuto fue similar en P y AG, siendo ambas mayor que la de AB. Esto traería consigo mayor radiopacidad de P y AG y mejor manejo de los mismos en comparación con AB. No obstante, en la práctica ni la radiopacidad ni el manejo son sustancialmente diferentes.

En función de la indicación del MTA, y al haber obtenido que AB y AG poseían mayor rango de tamaño de partículas, éstos podrían estar indicados en caso de buscar crecimiento óseo cerca de la lesión. Estas situaciones serían: lesiones de furca, cirugía endodóntica, perforaciones radiculares y tapones apicales. En estos tratamientos, el hecho de que AB y AG contuvieran partículas más grandes que las de P [291, 292], podría dar lugar a que, mediante los primeros, se generasen superficies de contacto más irregulares. Es conocido que las superficies irregulares estimulan una mayor **adhesión**

celular ósea y, por tanto, mayor posibilidad de que haya regeneración ósea [60, 125, 207, 208].

Dado que el MTA es un material no adhesivo, con el fin de que quede retenido en las cavidades, será necesario que exista **retención mecánica**. Ésta se conseguirá si las partículas de MTA son capaces de penetrar en los túbulos dentinarios.

Para conseguirlo, dentro de la metodología se introdujo el proceso de irrigación (hipoclorito de sodio + EDTA + hipoclorito de sodio). Con ello, se pretendió eliminar los restos orgánicos e inorgánicos que pudieran bloquear la entrada de las partículas de MTA en el interior de dichos túbulos dentinarios. Las partículas que integran el MTA deberían tener un tamaño menor al de los túbulos para poder penetrar en ellos y sellarlos tridimensionalmente durante el fraguado.

El tamaño y forma de las partículas fueron estudiados sin mezclar con el agua destilada. De hecho, los aglomerados de partículas que integran el polvo, fueron disgregados diluyéndolos en alcohol al 99% e insonificarlos previamente a su estudio. De este modo se caracterizó el tamaño y forma de las unidades elementales que fluyen en el cemento batido durante el proceso de fraguado y que determinan su capacidad para penetrar en los túbulos.

Dado que el tamaño medio de los túbulos dentinarios se sitúa en torno a los 2 μm [293] y su forma es redondeada, según los resultados obtenidos en este estudio, el 69% de las partículas que integraron AB, AG y P, serían capaces de introducirse en ellos. Estos resultados fueron similares a los obtenidos por Komabayashi [293]. Además, la circularidad media de los 3 tipos de MTA fue de $0,79 \pm 0,06$, por lo que, gracias a esta forma redondeada podrían penetrar más en los túbulos dentinarios al ofrecer una menor resistencia al movimiento.

Se emplearon **ultrasonidos para mejorar el sellado tridimensional superficial y en profundidad**. Al mezclar el polvo de los MTA con agua destilada, comienza el fraguado del MTA y la formación de aglomerados. Mediante los ultrasonidos se buscó, por tanto, disgregar los aglomerados de partículas de MTA para que pudieran introducirse en los túbulos dentinarios y, de este modo, reducir la posibilidad de aparición de gaps entre MTA y dentina. Por tanto, en aquellos casos en los que se observaron gaps, las partículas de MTA no habrán penetrado en los túbulos dentinarios lo suficiente como para retener el cemento.

En el estudio, de las 240 muestras originales revisadas con microscopía óptica e inspección visual, sólo se encontraron 15 muestras con gaps. En ellas, no se observó correlación entre la aparición de gaps y la aplicación o no de ultrasonidos a nivel superficial. En profundidad, sólo se halló esta correlación para AG. Estos resultados podrían sugerir, que, a pesar de que la adaptación del AG sea inicialmente peor que la de los otros cementos, sería susceptible de mejorar al aplicarle ultrasonidos. Sin embargo, dado el reducido número de muestras con gap con las que se realizó el estudio, llegar a decir que la aplicación de los ultrasonidos mejora significativamente la longitud de los gaps en AG, requeriría de un estudio empleando mayor número de gaps.

Cumplir con los requisitos estéticos es uno de los aspectos más importantes a tener en cuenta en la elección de los materiales dentales actuales. Por ello, resultó importante conocer el **color final** que adoptaría el MTA para determinar la estética final de los tratamientos en los que se emplea dicho cemento.

Con respecto a los 3 MTA empleados en el estudio, AG no cumpliría desde el primer momento con el objetivo estético. Sin embargo, la bibliografía consultada [13, 14, 33-50, 60, 265] y lo experimentado en este estudio, han puesto de manifiesto que los MTA blancos, pueden llegar a oscurecer su color hasta hacerse indistinguibles de los cementos grises. No obstante, las pruebas

realizadas en esta tesis, mostraron que la aplicación de ultrasonidos podría tener efecto en este cambio de color. El que los cementos blancos se oscurezcan darían lugar a no cumplir con el objetivo estético requerido en los tratamientos. Si el MTA blanco se colocara en el interior de la corona del diente (pulpotomías, recubrimientos pulpaes, blanqueamientos internos) y se oscureciera, podría llegar a transparentarse y afectarse la estética de la corona dental. Del mismo modo, en caso de emplearse en casos quirúrgicos (cirugía endodóntica, sellado de perforaciones y reabsorciones) si se oscureciera, podría llegar a transparentarse a través de la encía y afectar a la estética gingival.

A nivel superficial, se observó que la aplicación de ultrasonidos, ayudó a mantener el color blanco original del cemento, tanto en AB como en P. Sin embargo, el color blanco del MTA fraguado en contacto con la dentina será, para ambos cementos, más oscuro que el color original (fraguado en un molde de silicona aislado).

En profundidad, el color del cemento no fue homogéneo. Por ello, se decidió caracterizarlo en texturas. La más frecuente de éstas, en las muestras preparadas sin ultrasonidos fue la llamada “2 colores”, siendo siempre la porción superficial más clara y estrecha que la zona profunda de MTA. En la práctica, la región interior oscura podría llegar a transparentarse a través de la dentina afectando la estética final del tratamiento.

Cuando se aplicaron ultrasonidos, la textura más frecuente fue “1 color”. En el caso de AB con ultrasonidos, todas las muestras resultaron claras, mientras que para P, al aplicar ultrasonidos fueron tanto claras como oscuras. Esto supondría que los ultrasonidos en el caso de AB darían lugar a que se mantuviera su color original más que en P.

Respecto a las variables consideradas en otras publicaciones nuestro estudio muestra que:

- Ni un ambiente aerobio, ni la luz, ni el hipoclorito de sodio por sí solos determinan el cambio de color de todas las muestras.

- En esta tesis, cuando las muestras de los 3 MTA fraguaron en moldes de silicona y no en dientes, no hubo oscurecimiento en los cementos blancos.
- Por lo tanto, el mecanismo de cambio de color debe ser multifactorial y combinar todas estas condiciones, a las que se añade, el tratamiento con ultrasonidos, que ha sido estudiado por primera vez en esta tesis.

CONCLUSIONES

1. El análisis químico elemental de los 3 MTA estudiados no revela entre ellos diferencias significativas de composición más allá que las existentes entre lotes del mismo cemento.
2. La distribución de tamaños de partículas de pequeño tamaño es similar en los 3 tipos de MTA. Sin embargo, Coloured ProRoot® MTA presenta menos partículas grandes que MTA Ángelus® blanco y MTA Ángelus® gris.
3. La circularidad media de las partículas de los 3 tipos de MTA se encuentra en torno a 0,8. No obstante, se observa disminución de la circularidad en partículas mayores a 4 µm.
4. El uso de ultrasonidos no mejora significativamente la adaptación MTA-dentina ni en superficie ni en profundidad. Aunque en profundidad, la longitud media de los gaps mejora con uso de ultrasonidos de manera significativa ($p < 0,05$) para MTA Ángelus® gris.
5. El uso de ultrasonidos ayuda a mantener los colores originales de los MTA tanto en superficie como en profundidad, siendo especialmente notable la mejoría de MTA Ángelus® blanco respecto a la mejoría de Coloured ProRoot® MTA.

BIBLIOGRAFÍA

1. Torabinejad, M., T.F. Watson, and T.R. Pitt Ford, *Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material*. J Endod, 1993. **19**(12): p. 591-5.
2. Asgary, S., et al., *Chemical differences between white and gray mineral trioxide aggregate*. J Endod, 2005. **31**(2): p. 101-3.
3. Dammaschke, T., et al., *Chemical and physical surface and bulk material characterization of white ProRoot MTA and two Portland cements*. Dent Mater, 2005. **21**(8): p. 731-8.
4. Roberts, H.W., et al., *Mineral trioxide aggregate material use in endodontic treatment: a review of the literature*. Dent Mater, 2008. **24**(2): p. 149-64.
5. Hamad, H.A., P.A. Tordik, and S.B. McClanahan, *Furcation perforation repair comparing gray and white MTA: a dye extraction study*. J Endod, 2006. **32**(4): p. 337-40.
6. De-Deus, G., et al., *The ability of Portland cement, MTA, and MTA Bio to prevent through-and-through fluid movement in repaired furcal perforations*. J Endod, 2007. **33**(11): p. 1374-7.
7. Torabinejad, M., et al., *Dye leakage of four root end filling materials: effects of blood contamination*. J Endod, 1994. **20**(4): p. 159-63.
8. Saghiri, M.A., et al., *Effect of pH on sealing ability of white mineral trioxide aggregate as a root-end filling material*. J Endod, 2008. **34**(10): p. 1226-9.
9. Kogan, P., et al., *The effects of various additives on setting properties of MTA*. J Endod, 2006. **32**(6): p. 569-72.
10. Camilleri, J., et al., *The constitution of mineral trioxide aggregate*. Dent Mater, 2005. **21**(4): p. 297-303.
11. Santos, A.D., et al., *Physico-chemical properties of MTA and a novel experimental cement*. Int Endod J, 2005. **38**(7): p. 443-7.
12. Aminoshariae, A., G.R. Hartwell, and P.C. Moon, *Placement of mineral trioxide aggregate using two different techniques*. J Endod, 2003. **29**(10): p. 679-82.
13. Valles, M., et al., *Influence of light and oxygen on the color stability of five calcium silicate-based materials*. J Endod, 2013. **39**(4): p. 525-8.
14. Valles, M., et al., *Color stability of white mineral trioxide aggregate*. Clin Oral Investig, 2013. **17**(4): p. 1155-9.
15. Yeung, P., F.R. Liewehr, and P.C. Moon, *A quantitative comparison of the fill density of MTA produced by two placement techniques*. J Endod, 2006. **32**(5): p. 456-9.
16. Lawley, G.R., et al., *Evaluation of ultrasonically placed MTA and fracture resistance with intracanal composite resin in a model of apexification*. J Endod, 2004. **30**(3): p. 167-72.
17. Nekoofar, M.H., Z. Aseeley, and P.M. Dummer, *The effect of various mixing techniques on the surface microhardness of mineral trioxide aggregate*. Int Endod J, 2010. **43**(4): p. 312-20.
18. Arens, D.E. and M. Torabinejad, *Repair of furcal perforations with mineral trioxide aggregate: two case reports*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 1996. **82**(1): p. 84-8.
19. Lee, S.J., M. Monsef, and M. Torabinejad, *Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations*. J Endod, 1993. **19**(11): p. 541-4.
20. Nair, P.N., et al., *Histological, ultrastructural and quantitative investigations on the response of healthy human pulps to experimental capping with mineral trioxide aggregate: a randomized controlled trial*. Int Endod J, 2008. **41**(2): p. 128-50.

21. Park, J.W., et al., *X-Ray diffraction analysis of white ProRoot MTA and Diadent BioAggregate*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2010. **109**(1): p. 155-8.
22. Schwartz, R.S., et al., *Mineral trioxide aggregate: a new material for endodontics*. J Am Dent Assoc, 1999. **130**(7): p. 967-75.
23. Dominguez, M.S., et al., *Histological and scanning electron microscopy assessment of various vital pulp-therapy materials*. J Endod, 2003. **29**(5): p. 324-33.
24. Torabinejad, M. and N. Chivian, *Clinical applications of mineral trioxide aggregate*. J Endod, 1999. **25**(3): p. 197-205.
25. Ford, T.R., et al., *Using mineral trioxide aggregate as a pulp-capping material*. J Am Dent Assoc, 1996. **127**(10): p. 1491-4.
26. Darvell, B.W. and R.C. Wu, *"MTA"-an Hydraulic Silicate Cement: review update and setting reaction*. Dent Mater, 2011. **27**(5): p. 407-22.
27. Torabinejad, M., et al., *Physical and chemical properties of a new root-end filling material*. J Endod, 1995. **21**(7): p. 349-53.
28. Fischer, E.J., D.E. Arens, and C.H. Miller, *Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as compared with zinc-free amalgam, intermediate restorative material, and Super-EBA as a root-end filling material*. J Endod, 1998. **24**(3): p. 176-9.
29. Parirokh, M. and M. Torabinejad, *Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--Part III: Clinical applications, drawbacks, and mechanism of action*. J Endod, 2010. **36**(3): p. 400-13.
30. Fridland, M. and R. Rosado, *Mineral trioxide aggregate (MTA) solubility and porosity with different water-to-powder ratios*. J Endod, 2003. **29**(12): p. 814-7.
31. Lee, E.S., *A new mineral trioxide aggregate root-end filling technique*. J Endod, 2000. **26**(12): p. 764-5.
32. Andelin, W.E., et al., *Microleakage of resected MTA*. J Endod, 2002. **28**(8): p. 573-4.
33. Boutsoukis, C., G. Noura, and T. Lambrianidis, *Ex vivo study of the efficiency of two techniques for the removal of mineral trioxide aggregate used as a root canal filling material*. J Endod, 2008. **34**(10): p. 1239-42.
34. Camilleri, J., *Color stability of white mineral trioxide aggregate in contact with hypochlorite solution*. J Endod, 2014. **40**(3): p. 436-40.
35. Marciano, M.A., et al., *Assessment of color stability of white mineral trioxide aggregate angelus and bismuth oxide in contact with tooth structure*. J Endod, 2014. **40**(8): p. 1235-40.
36. Marciano, M.A., et al., *Analysis of the color alteration and radiopacity promoted by bismuth oxide in calcium silicate cement*. Braz Oral Res, 2013. **27**(4): p. 318-23.
37. Tsujimoto, M., et al., *Surface changes of mineral trioxide aggregate after the application of bleaching agents: electron microscopy and an energy-dispersive X-ray microanalysis*. J Endod, 2011. **37**(2): p. 231-4.
38. Watts, J.D., et al., *Effects of pH and mixing agents on the temporal setting of tooth-colored and gray mineral trioxide aggregate*. J Endod, 2007. **33**(8): p. 970-3.
39. Akbari, M., et al., *Effect of dentin bonding agent on the prevention of tooth discoloration produced by mineral trioxide aggregate*. Int J Dent, 2012. **2012**: p. 563203.
40. Belobrov, I. and P. Parashos, *Treatment of tooth discoloration after the use of white mineral trioxide aggregate*. J Endod, 2011. **37**(7): p. 1017-20.
41. Felman, D. and P. Parashos, *Coronal tooth discoloration and white mineral trioxide aggregate*. J Endod, 2013. **39**(4): p. 484-7.
42. Ioannidis, K., et al., *Spectrophotometric analysis of coronal discolouration induced by grey and white MTA*. Int Endod J, 2013. **46**(2): p. 137-44.
43. Jacobovitz, M. and R.K. de Lima, *Treatment of inflammatory internal root resorption with mineral trioxide aggregate: a case report*. Int Endod J, 2008. **41**(10): p. 905-12.

44. Jang, J.H., et al., *Tooth discoloration after the use of new pozzolan cement (Endocem) and mineral trioxide aggregate and the effects of internal bleaching*. J Endod, 2013. **39**(12): p. 1598-602.
45. Krastl, G., et al., *Tooth discoloration induced by endodontic materials: a literature review*. Dent Traumatol, 2013. **29**(1): p. 2-7.
46. Lenherr, P., et al., *Tooth discoloration induced by endodontic materials: a laboratory study*. Int Endod J, 2012. **45**(10): p. 942-9.
47. Naik, S. and A.H. Hegde, *Mineral trioxide aggregate as a pulpotomy agent in primary molars: an in vivo study*. J Indian Soc Pedod Prev Dent, 2005. **23**(1): p. 13-6.
48. Yildirim, T. and N. Gencoglu, *Use of mineral trioxide aggregate in the treatment of horizontal root fractures with a 5-year follow-up: report of a case*. J Endod, 2009. **35**(2): p. 292-5.
49. Bortoluzzi, E.A., et al., *Marginal gingiva discoloration by gray MTA: a case report*. J Endod, 2007. **33**(3): p. 325-7.
50. Bortoluzzi, E.A., et al., *Sealing ability of MTA and radiopaque Portland cement with or without calcium chloride for root-end filling*. J Endod, 2006. **32**(9): p. 897-900.
51. Nekoofar, M.H., et al., *The effect of condensation pressure on selected physical properties of mineral trioxide aggregate*. Int Endod J, 2007. **40**(6): p. 453-61.
52. Bird, D.C., et al., *In vitro evaluation of dentinal tubule penetration and biomineralization ability of a new root-end filling material*. J Endod, 2012. **38**(8): p. 1093-6.
53. Chng, H.K., et al., *Properties of a new root-end filling material*. J Endod, 2005. **31**(9): p. 665-8.
54. García-Barbero, E.B.-R., J.L. Vera-González, V. Rodríguez-Muñoz, A. Velázquez-Cano, J. González-Losada, C. , *Nuevas posibilidades en endodoncia*. Revista Europea de Odonto-Estomatología, 2000. **XII**(6): p. 325-30.
55. Torabinejad, M. and M. Parirokh, *Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--part II: leakage and biocompatibility investigations*. J Endod, 2010. **36**(2): p. 190-202.
56. Pérez, G., *Tipos de espectrometría*. 1 febrero 2014.
57. Cabrera, R., *Caracterización de los materiales*. 13 septiembre 2011.
58. Guven, Y., et al., *X-ray diffraction analysis of MTA-Plus, MTA-Angelus and DiaRoot BioAggregate*. Eur J Dent, 2014. **8**(2): p. 211-5.
59. investigación, S.t.d., *Técnicas de análisis químicos de las superficies*. 23 noviembre 2012.
60. Asgary, S., et al., *A qualitative X-ray analysis of white and grey mineral trioxide aggregate using compositional imaging*. J Mater Sci Mater Med, 2006. **17**(2): p. 187-91.
61. Sánchez, L., *Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS)*. 25 febrero 2008.
62. Macías, D., *Difracción de rayos X*. 12 diciembre 2012.
63. Tavizón, A. *Presentación de información básica de la difracción de rayos X*. 17 julio 2013; Available from: http://es.slideshare.net/atavizon/difraccin-de-rayos-x-24357216?next_slideshow=1.
64. Islam, I., H.K. Chng, and A.U. Yap, *X-ray diffraction analysis of mineral trioxide aggregate and Portland cement*. Int Endod J, 2006. **39**(3): p. 220-5.
65. Martínez-Ripoll, M. *Los Rayos X*. 26 marzo 2015; Available from: http://www.xtal.iqfr.csic.es/Cristalografia/parte_02.html.
66. Soheilipour, E., et al., *Particle size of a new endodontic cement compared to Root MTA and calcium hydroxide*. Iran Endod J, 2009. **4**(3): p. 112-6.
67. Komabayashi, T. and L.S. Spangberg, *Comparative analysis of the particle size and shape of commercially available mineral trioxide aggregates and Portland cement: a study with a flow particle image analyzer*. J Endod, 2008. **34**(1): p. 94-8.

68. Komabayashi, T., et al., *Influence of powder composition and morphology on penetration of Gray and White ProRoot mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide into dentin tubules*. J Oral Sci, 2014. **56**(4): p. 287-93.
69. Komabayashi, T. and L.S. Spangberg, *Particle size and shape analysis of MTA finer fractions using Portland cement*. J Endod, 2008. **34**(6): p. 709-11.
70. IESMAT, S.A. 2010; Available from: <http://www.iesmat.com/Productos-MI-AFP-FPIA3000.htm>.
71. Malvern, 2015.
72. Komabayashi, T., et al., *Particle size and shape of calcium hydroxide*. J Endod, 2009. **35**(2): p. 284-7.
73. Frías, M., de Luxán MP, Sánchez de Rojas ML., *Espectrometría de difracción por rayos láser*. Materiales de Construcción., 1988. **38**(212): p. 37-52.
74. Ha, W.N., B. Kahler, and L.J. Walsh, *Particle size changes in unsealed mineral trioxide aggregate powder*. J Endod, 2014. **40**(3): p. 423-6.
75. Solá-Santos J, H.-P.J., Fernández-Cruz R. *Enseñanza de la física y la química en Educación Secundaria*. Grupo Heurema. 2015; Available from: <http://www.heurema.com>.
76. Martín Fernández, S., *Cómo funciona un microscopio electrónico de barrido*. 100cias UNED, 2006. **9**: p. 151-155.
77. UNED. *Microscopía electrónica*. 2015; Available from: http://www.uned.es/cristamine/mineral/metodos/micr_electr.htm.
78. Montellano, A.M., S.A. Schwartz, and T.J. Beeson, *Contamination of tooth-colored mineral trioxide aggregate used as a root-end filling material: a bacterial leakage study*. J Endod, 2006. **32**(5): p. 452-5.
79. Scheerer, S.Q., H.R. Steiman, and J. Cohen, *A comparative evaluation of three root-end filling materials: an in vitro leakage study using Prevotella nigrescens*. J Endod, 2001. **27**(1): p. 40-2.
80. Rekab, M.S. and H.R. Ayoubi, *Evaluation of the apical sealability of mineral trioxide aggregate and portland cement as root canal filling cements: an in vitro study*. J Dent (Tehran), 2010. **7**(4): p. 205-13.
81. Hashem, A.A. and E.E. Hassanien, *ProRoot MTA, MTA-Angelus and IRM used to repair large furcation perforations: sealability study*. J Endod, 2008. **34**(1): p. 59-61.
82. Camps, J. and D. Pashley, *Reliability of the dye penetration studies*. J Endod, 2003. **29**(9): p. 592-4.
83. Tabares-Martínez P, G.-B.E., *Análisis de los métodos de filtración*. Cien Dent, 2009. **6**(1): p. 21-8.
84. Bates, C.F., D.L. Carnes, and C.E. del Rio, *Longitudinal sealing ability of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material*. J Endod, 1996. **22**(11): p. 575-8.
85. Wu, M.K., E.G. Kontakiotis, and P.R. Wesselink, *Long-term seal provided by some root-end filling materials*. J Endod, 1998. **24**(8): p. 557-60.
86. Camilleri, J. and T.R. Pitt Ford, *Evaluation of the effect of tracer pH on the sealing ability of glass ionomer cement and mineral trioxide aggregate*. J Mater Sci Mater Med, 2008. **19**(8): p. 2941-8.
87. De Bruyne, M.A., et al., *Longitudinal study on microleakage of three root-end filling materials by the fluid transport method and by capillary flow porometry*. Int Endod J, 2005. **38**(2): p. 129-36.
88. Adamo, H.L., et al., *A comparison of MTA, Super-EBA, composite and amalgam as root-end filling materials using a bacterial microleakage model*. Int Endod J, 1999. **32**(3): p. 197-203.
89. Gondim, E., Jr., S. Kim, and F.J. de Souza-Filho, *An investigation of microleakage from root-end fillings in ultrasonic retrograde cavities with or without finishing: a*

- quantitative analysis*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2005. **99**(6): p. 755-60.
90. Torabinejad, M., et al., *Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material*. J Endod, 1995. **21**(3): p. 109-12.
 91. Hardy, I., et al., *Sealing ability of One-Up Bond and MTA with and without a secondary seal as furcation perforation repair materials*. J Endod, 2004. **30**(9): p. 658-61.
 92. Gandolfi, M.G., et al., *New tetrasilicate cements as retrograde filling material: an in vitro study on fluid penetration*. J Endod, 2007. **33**(6): p. 742-5.
 93. *Diccionario de la lengua Española*. Real Academia de la Lengua 2001. **XXII edición**.
 94. NIH Image Processing Interest Group. Recuperado en Diciembre 12, de la World Wide Web: http://image.nih.gov/software/ip_packages.html.
 95. Montalvo-Arenas, C., *Microscopía*. agosto 2012.
 96. Narváez-Armas, D., *La microscopía: herramientas para estudiar células y tejidos*.
 97. Torabinejad, M., et al., *Comparative investigation of marginal adaptation of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials*. J Endod, 1995. **21**(6): p. 295-9.
 98. Shipper, G., et al., *Marginal adaptation of mineral trioxide aggregate (MTA) compared with amalgam as a root-end filling material: a low-vacuum (LV) versus high-vacuum (HV) SEM study*. Int Endod J, 2004. **37**(5): p. 325-36.
 99. Gundam, S., et al., *Comparison of marginal adaptation of mineral trioxide aggregate, glass ionomer cement and intermediate restorative material as root-end filling materials, using scanning electron microscope: An in vitro study*. J Conserv Dent, 2014. **17**(6): p. 566-70.
 100. Goicovic, G., *Percepción del color*. 10 mayo 2015.
 101. Pertusa Grau, J., *Técnicas de análisis de imagen. Aplicaciones en Biología*. Primera ed. 2003, Valencia: Educació Materials 65.
 102. Fogel, H.M. and M.D. Peikoff, *Microleakage of root-end filling materials*. J Endod, 2001. **27**(7): p. 456-8.
 103. Nakata, T.T., K.S. Bae, and J.C. Baumgartner, *Perforation repair comparing mineral trioxide aggregate and amalgam using an anaerobic bacterial leakage model*. J Endod, 1998. **24**(3): p. 184-6.
 104. Torabinejad, M., B. Ung, and J.D. Kettering, *In vitro bacterial penetration of coronally unsealed endodontically treated teeth*. J Endod, 1990. **16**(12): p. 566-9.
 105. Lamb, E.L., et al., *Effect of root resection on the apical sealing ability of mineral trioxide aggregate*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2003. **95**(6): p. 732-5.
 106. Yatsushiro, J.D., J.C. Baumgartner, and J.S. Tinkle, *Longitudinal study of the microleakage of two root-end filling materials using a fluid conductive system*. J Endod, 1998. **24**(11): p. 716-9.
 107. Ferik Luketic, S., et al., *Coronal microleakage of two root-end filling materials using a polymicrobial marker*. J Endod, 2008. **34**(2): p. 201-3.
 108. Tang, H.M., M. Torabinejad, and J.D. Kettering, *Leakage evaluation of root end filling materials using endotoxin*. J Endod, 2002. **28**(1): p. 5-7.
 109. Shokouhinejad, N., et al., *Marginal adaptation of new bioceramic materials and mineral trioxide aggregate: a scanning electron microscopy study*. Iran Endod J, 2014. **9**(2): p. 144-8.
 110. AlAnezi, A.Z., et al., *Effect of selected accelerants on setting time and biocompatibility of mineral trioxide aggregate (MTA)*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2011. **111**(1): p. 122-7.
 111. Hawley, M., T.D. Webb, and G.G. Goodell, *Effect of varying water-to-powder ratios on the setting expansion of white and gray mineral trioxide aggregate*. J Endod, 2010. **36**(8): p. 1377-9.

112. Mamootil, K. and H.H. Messer, *Penetration of dentinal tubules by endodontic sealer cements in extracted teeth and in vivo*. Int Endod J, 2007. **40**(11): p. 873-81.
113. Camilleri, J., et al., *The chemical constitution and biocompatibility of accelerated Portland cement for endodontic use*. Int Endod J, 2005. **38**(11): p. 834-42.
114. Camilleri, J. and T.R. Pitt Ford, *Mineral trioxide aggregate: a review of the constituents and biological properties of the material*. Int Endod J, 2006. **39**(10): p. 747-54.
115. Torabinejad, M., *United States Patent 5,415,547*. 1995.
116. Torabinejad, M.W., D., *United States Patent 5,769,638*. 1998.
117. Matt, G.D., et al., *Comparative study of white and gray mineral trioxide aggregate (MTA) simulating a one- or two-step apical barrier technique*. J Endod, 2004. **30**(12): p. 876-9.
118. Perez, A.L., et al., *Osteoblasts and MG-63 osteosarcoma cells behave differently when in contact with ProRoot MTA and White MTA*. Int Endod J, 2003. **36**(8): p. 564-70.
119. Schembri, M., G. Peplow, and J. Camilleri, *Analyses of heavy metals in mineral trioxide aggregate and Portland cement*. J Endod, 2010. **36**(7): p. 1210-5.
120. Duarte, M.A., et al., *pH and calcium ion release of 2 root-end filling materials*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2003. **95**(3): p. 345-7.
121. Hungaro Duarte, M.A., et al., *Radiopacity of portland cement associated with different radiopacifying agents*. J Endod, 2009. **35**(5): p. 737-40.
122. Camilleri, J., A. Cutajar, and B. Mallia, *Hydration characteristics of zirconium oxide replaced Portland cement for use as a root-end filling material*. Dent Mater, 2011. **27**(8): p. 845-54.
123. Camilleri, J., *Characterization of hydration products of mineral trioxide aggregate*. Int Endod J, 2008. **41**(5): p. 408-17.
124. Hwang, Y.C., et al., *Chemical constitution, physical properties, and biocompatibility of experimentally manufactured Portland cement*. J Endod, 2011. **37**(1): p. 58-62.
125. Hwang, Y.C., et al., *Chemical composition, radiopacity, and biocompatibility of Portland cement with bismuth oxide*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2009. **107**(3): p. e96-102.
126. Sarkar, N.K., et al., *Physicochemical basis of the biologic properties of mineral trioxide aggregate*. J Endod, 2005. **31**(2): p. 97-100.
127. Sirvent-Encinas F, B.P.-B.R., Donado-Rodríguez M., *Diferentes tipos de MTA como materiales de obturación a retro*. Endodoncia., 2010. **28**: p. 153-66.
128. Song, J.S., et al., *Chemical analysis of powder and set forms of Portland cement, gray ProRoot MTA, white ProRoot MTA, and gray MTA-Angelus*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2006. **102**(6): p. 809-15.
129. Torabinejad, M., et al., *Cytotoxicity of four root end filling materials*. J Endod, 1995. **21**(10): p. 489-92.
130. Camilleri, J., et al., *Characterization and analyses of acid-extractable and leached trace elements in dental cements*. Int Endod J, 2012. **45**(8): p. 737-43.
131. García-Aranda, R.G.-G., M., *Similitud de la morfología y química elemental de los cementos tipo agregado trióxido mineral y cemento Portland, mediante microscopía electrónica de barrido y espectroscopía de dispersión de electrones*. Rev Odont Mex, 2014. **18**(2): p. 105-10.
132. Coomaraswamy, K.S., P.J. Lumley, and M.P. Hofmann, *Effect of bismuth oxide radioopacifier content on the material properties of an endodontic Portland cement-based (MTA-like) system*. J Endod, 2007. **33**(3): p. 295-8.
133. Zeferino, E.G., et al., *Ex vivo assessment of genotoxicity and cytotoxicity in murine fibroblasts exposed to white MTA or white Portland cement with 15% bismuth oxide*. Int Endod J, 2010. **43**(10): p. 843-8.
134. Camilleri, J., et al., *Biocompatibility of two commercial forms of mineral trioxide aggregate*. Int Endod J, 2004. **37**(10): p. 699-704.

135. Islam, I., H.K. Chng, and A.U. Yap, *Comparison of the physical and mechanical properties of MTA and portland cement*. J Endod, 2006. **32**(3): p. 193-7.
136. Camilleri, J., *Evaluation of the effect of intrinsic material properties and ambient conditions on the dimensional stability of white mineral trioxide aggregate and Portland cement*. J Endod, 2011. **37**(2): p. 239-45.
137. De-Deus, G., et al., *MTA versus Portland cement as repair material for furcal perforations: a laboratory study using a polymicrobial leakage model*. Int Endod J, 2006. **39**(4): p. 293-8.
138. Estrela, C., et al., *Antimicrobial and chemical study of MTA, Portland cement, calcium hydroxide paste, Sealapex and Dycal*. Braz Dent J, 2000. **11**(1): p. 3-9.
139. Oliveira, M.G., et al., *Comparative chemical study of MTA and Portland cements*. Braz Dent J, 2007. **18**(1): p. 3-7.
140. Torabinejad, M., et al., *Tissue reaction to implanted root-end filling materials in the tibia and mandible of guinea pigs*. J Endod, 1998. **24**(7): p. 468-71.
141. Saidon, J., et al., *Cell and tissue reactions to mineral trioxide aggregate and Portland cement*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2003. **95**(4): p. 483-9.
142. Danesh, G., et al., *A comparative study of selected properties of ProRoot mineral trioxide aggregate and two Portland cements*. Int Endod J, 2006. **39**(3): p. 213-9.
143. De-Deus, G., et al., *Negligible expression of arsenic in some commercially available brands of Portland cement and mineral trioxide aggregate*. J Endod, 2009. **35**(6): p. 887-90.
144. Duarte, M.A., et al., *Arsenic release provided by MTA and Portland cement*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2005. **99**(5): p. 648-50.
145. Monteiro Bramante, C., et al., *Presence of arsenic in different types of MTA and white and gray Portland cement*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2008. **106**(6): p. 909-13.
146. Bortoluzzi, E.A., et al., *Radiographic effect of different radiopacifiers on a potential retrograde filling material*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2009. **108**(4): p. 628-32.
147. Parirokh, M. and M. Torabinejad, *Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--Part I: chemical, physical, and antibacterial properties*. J Endod, 2010. **36**(1): p. 16-27.
148. Menezes, R., et al., *Histologic evaluation of pulpotomies in dog using two types of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cements as wound dressings*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2004. **98**(3): p. 376-9.
149. Camilleri, J., *Hydration mechanisms of mineral trioxide aggregate*. Int Endod J, 2007. **40**(6): p. 462-70.
150. Tay, F.R., et al., *Calcium phosphate phase transformation produced by the interaction of the portland cement component of white mineral trioxide aggregate with a phosphate-containing fluid*. J Endod, 2007. **33**(11): p. 1347-51.
151. Gandolfi, M.G., et al., *Environmental scanning electron microscopy connected with energy dispersive x-ray analysis and Raman techniques to study ProRoot mineral trioxide aggregate and calcium silicate cements in wet conditions and in real time*. J Endod, 2010. **36**(5): p. 851-7.
152. Hsieh, S.C., et al., *A novel accelerator for improving the handling properties of dental filling materials*. J Endod, 2009. **35**(9): p. 1292-5.
153. Storm, B., et al., *Setting expansion of gray and white mineral trioxide aggregate and Portland cement*. J Endod, 2008. **34**(1): p. 80-2.
154. Torabinejad, M., et al., *Investigation of mineral trioxide aggregate for root-end filling in dogs*. J Endod, 1995. **21**(12): p. 603-8.
155. Holland, R., et al., *Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide*. J Endod, 1999. **25**(3): p. 161-6.

156. Koh, E.T., et al., *Cellular response to Mineral Trioxide Aggregate*. J Endod, 1998. **24**(8): p. 543-7.
157. Torabinejad, M., et al., *Antibacterial effects of some root end filling materials*. J Endod, 1995. **21**(8): p. 403-6.
158. Chong, B.S., T.R. Pitt Ford, and M.B. Hudson, *A prospective clinical study of Mineral Trioxide Aggregate and IRM when used as root-end filling materials in endodontic surgery*. Int Endod J, 2003. **36**(8): p. 520-6.
159. Zhu, Q., et al., *Adhesion of human osteoblasts on root-end filling materials*. J Endod, 2000. **26**(7): p. 404-6.
160. García-Barbero E, G.-L.C., Gancedo-Caravia L, Vera-González V., *Influencia de la manipulación del agregado trióxido mineral sobre su capacidad de adaptación al diente*. Prof Dent, 2003. **6**: p. 405-12.
161. Fridland, M. and R. Rosado, *MTA solubility: a long term study*. J Endod, 2005. **31**(5): p. 376-9.
162. Maroto, M., et al., *Treatment of a non-vital immature incisor with mineral trioxide aggregate (MTA)*. Dent Traumatol, 2003. **19**(3): p. 165-9.
163. Sluyk, S.R., P.C. Moon, and G.R. Hartwell, *Evaluation of setting properties and retention characteristics of mineral trioxide aggregate when used as a furcation perforation repair material*. J Endod, 1998. **24**(11): p. 768-71.
164. Nekoofar, M.H., et al., *An evaluation of the effect of blood and human serum on the surface microhardness and surface microstructure of mineral trioxide aggregate*. Int Endod J, 2010. **43**(10): p. 849-58.
165. Nekoofar, M.H., D.F. Stone, and P.M. Dummer, *The effect of blood contamination on the compressive strength and surface microstructure of mineral trioxide aggregate*. Int Endod J, 2010. **43**(9): p. 782-91.
166. Vanderweele, R.A., S.A. Schwartz, and T.J. Beeson, *Effect of blood contamination on retention characteristics of MTA when mixed with different liquids*. J Endod, 2006. **32**(5): p. 421-4.
167. Budig, C.G. and P.D. Eleazer, *In vitro comparison of the setting of dry ProRoot MTA by moisture absorbed through the root*. J Endod, 2008. **34**(6): p. 712-4.
168. Namazikhah, M.S., et al., *The effect of pH on surface hardness and microstructure of mineral trioxide aggregate*. Int Endod J, 2008. **41**(2): p. 108-16.
169. Walker, M.P., A. Diliberto, and C. Lee, *Effect of setting conditions on mineral trioxide aggregate flexural strength*. J Endod, 2006. **32**(4): p. 334-6.
170. Holmes, C.J. and D. Faict, *Peritoneal dialysis solution biocompatibility: definitions and evaluation strategies*. Kidney Int Suppl, 2003(88): p. S50-6.
171. Asrari, M. and D. Lobner, *In vitro neurotoxic evaluation of root-end-filling materials*. J Endod, 2003. **29**(11): p. 743-6.
172. Keiser, K., C.C. Johnson, and D.A. Tipton, *Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts*. J Endod, 2000. **26**(5): p. 288-91.
173. Kettering, J.D. and M. Torabinejad, *Investigation of mutagenicity of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials*. J Endod, 1995. **21**(11): p. 537-42.
174. Osorio, R.M., et al., *Cytotoxicity of endodontic materials*. J Endod, 1998. **24**(2): p. 91-6.
175. Regan, J.D., J.L. Gutmann, and D.E. Witherspoon, *Comparison of Diaket and MTA when used as root-end filling materials to support regeneration of the periradicular tissues*. Int Endod J, 2002. **35**(10): p. 840-7.
176. Torabinejad, M., et al., *Tissue reaction to implanted super-EBA and mineral trioxide aggregate in the mandible of guinea pigs: a preliminary report*. J Endod, 1995. **21**(11): p. 569-71.
177. Torabinejad, M., et al., *Histologic assessment of mineral trioxide aggregate as a root-end filling in monkeys*. J Endod, 1997. **23**(4): p. 225-8.

178. Bozeman, T.B., R.R. Lemon, and P.D. Eleazer, *Elemental analysis of crystal precipitate from gray and white MTA*. J Endod, 2006. **32**(5): p. 425-8.
179. Reyes-Carmona, J.F., et al., *Host-mineral trioxide aggregate inflammatory molecular signaling and biomineralization ability*. J Endod, 2010. **36**(8): p. 1347-53.
180. Baek, S.H., H. Plenk, Jr., and S. Kim, *Periapical tissue responses and cementum regeneration with amalgam, SuperEBA, and MTA as root-end filling materials*. J Endod, 2005. **31**(6): p. 444-9.
181. Camp, J.H., *Diagnosis dilemmas in vital pulp therapy: treatment for the toothache is changing, especially in young, immature teeth*. J Endod, 2008. **34**(7 Suppl): p. S6-12.
182. Chen, C.L., et al., *Comparison of calcium and silicate cement and mineral trioxide aggregate biologic effects and bone markers expression in MG63 cells*. J Endod, 2009. **35**(5): p. 682-5.
183. Ham, K.A., et al., *Preliminary evaluation of BMP-2 expression and histological characteristics during apexification with calcium hydroxide and mineral trioxide aggregate*. J Endod, 2005. **31**(4): p. 275-9.
184. Martin, R.L., et al., *Sealing properties of mineral trioxide aggregate orthograde apical plugs and root fillings in an in vitro apexification model*. J Endod, 2007. **33**(3): p. 272-5.
185. Reyes-Carmona, J.F., M.S. Felipe, and W.T. Felipe, *Biomineralization ability and interaction of mineral trioxide aggregate and white portland cement with dentin in a phosphate-containing fluid*. J Endod, 2009. **35**(5): p. 731-6.
186. Shabahang, S., et al., *A comparative study of root-end induction using osteogenic protein-1, calcium hydroxide, and mineral trioxide aggregate in dogs*. J Endod, 1999. **25**(1): p. 1-5.
187. Gandolfi, M.G., et al., *Apatite-forming ability (bioactivity) of ProRoot MTA*. Int Endod J, 2010. **43**(10): p. 917-29.
188. Ribeiro, D.A., et al., *Genotoxicity and cytotoxicity of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cements on Chinese hamster ovary (CHO) cells in vitro*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2006. **101**(2): p. 258-61.
189. Pistorius, A., B. Willershausen, and B. Briseno Marroquin, *Effect of apical root-end filling materials on gingival fibroblasts*. Int Endod J, 2003. **36**(9): p. 610-5.
190. Thomson, T.S., et al., *Cementoblasts maintain expression of osteocalcin in the presence of mineral trioxide aggregate*. J Endod, 2003. **29**(6): p. 407-12.
191. Faraco, I.M., Jr. and R. Holland, *Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or a calcium hydroxide cement*. Dent Traumatol, 2001. **17**(4): p. 163-6.
192. Yaltirik, M., et al., *Reactions of connective tissue to mineral trioxide aggregate and amalgam*. J Endod, 2004. **30**(2): p. 95-9.
193. Favieri, A., et al., *Use of biomaterials in periradicular surgery: a case report*. J Endod, 2008. **34**(4): p. 490-4.
194. Kuratate, M., et al., *Immunohistochemical analysis of nestin, osteopontin, and proliferating cells in the reparative process of exposed dental pulp capped with mineral trioxide aggregate*. J Endod, 2008. **34**(8): p. 970-4.
195. Balto, H.A., *Attachment and morphological behavior of human periodontal ligament fibroblasts to mineral trioxide aggregate: a scanning electron microscope study*. J Endod, 2004. **30**(1): p. 25-9.
196. Hakki, S.S., et al., *Effects of mineral trioxide aggregate on cell survival, gene expression associated with mineralized tissues, and biomineralization of cementoblasts*. J Endod, 2009. **35**(4): p. 513-9.
197. Koulaouzidou, E.A., et al., *In vitro evaluation of the cytotoxicity of ProRoot MTA and MTA Angelus*. J Oral Sci, 2008. **50**(4): p. 397-402.
198. Xavier, C.B., et al., *Root-end filling materials: apical microleakage and marginal adaptation*. J Endod, 2005. **31**(7): p. 539-42.

199. Haglund, R., et al., *Effects of root-end filling materials on fibroblasts and macrophages in vitro*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2003. **95**(6): p. 739-45.
200. Yildirim, T., et al., *Histologic study of furcation perforations treated with MTA or Super EBA in dogs' teeth*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2005. **100**(1): p. 120-4.
201. Bonson, S., B.G. Jeansonne, and T.E. Lallier, *Root-end filling materials alter fibroblast differentiation*. J Dent Res, 2004. **83**(5): p. 408-13.
202. Moghaddame-Jafari, S., et al., *Effect of ProRoot MTA on pulp cell apoptosis and proliferation in vitro*. J Endod, 2005. **31**(5): p. 387-91.
203. Perinpanayagam, H. and E. Al-Rabeah, *Osteoblasts interact with MTA surfaces and express Runx2*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2009. **107**(4): p. 590-6.
204. Tziafas, D., et al., *The dentinogenic effect of mineral trioxide aggregate (MTA) in short-term capping experiments*. Int Endod J, 2002. **35**(3): p. 245-54.
205. Al-Hezaimi, K., et al., *Histomorphometric and micro-computed tomography analysis of pulpal response to three different pulp capping materials*. J Endod, 2011. **37**(4): p. 507-12.
206. Asgary, S., et al., *A comparative study of histologic response to different pulp capping materials and a novel endodontic cement*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2008. **106**(4): p. 609-14.
207. Kieswetter, K., et al., *Surface roughness modulates the local production of growth factors and cytokines by osteoblast-like MG-63 cells*. J Biomed Mater Res, 1996. **32**(1): p. 55-63.
208. Linez-Bataillon, P., et al., *In vitro MC3T3 osteoblast adhesion with respect to surface roughness of Ti6Al4V substrates*. Biomol Eng, 2002. **19**(2-6): p. 133-41.
209. Kolenbrander, P.E., et al., *Bacterial interactions and successions during plaque development*. Periodontol 2000, 2006. **42**: p. 47-79.
210. Yildirim, T., H. Orucoglu, and F.K. Cobankara, *Long-term evaluation of the influence of smear layer on the apical sealing ability of MTA*. J Endod, 2008. **34**(12): p. 1537-40.
211. Araújo, A.C., et al., *Influence of smear layer removal and application mode of MTA on the marginal adaptation in immature teeth: a SEM analysis*. Dent Traumatol, 2013. **29**(3): p. 212-7.
212. Kokkas, A.B., et al., *The influence of the smear layer on dentinal tubule penetration depth by three different root canal sealers: an in vitro study*. J Endod, 2004. **30**(2): p. 100-2.
213. Smith, J.B., et al., *Metrologic evaluation of the surface of white MTA after the use of two endodontic irrigants*. J Endod, 2007. **33**(4): p. 463-7.
214. Uyanik, M.O., et al., *Effects of different irrigation regimens on the sealing properties of repaired furcal perforations*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2009. **107**(3): p. e91-5.
215. Lee, Y.L., et al., *Effects of EDTA on the hydration mechanism of mineral trioxide aggregate*. J Dent Res, 2007. **86**(6): p. 534-8.
216. Sonmez, D., S. Sari, and T. Cetinbas, *A Comparison of four pulpotomy techniques in primary molars: a long-term follow-up*. J Endod, 2008. **34**(8): p. 950-5.
217. Accorinte Mde, L., et al., *Evaluation of mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide cement as pulp-capping agents in human teeth*. J Endod, 2008. **34**(1): p. 1-6.
218. Aeinehchi, M., et al., *Mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium hydroxide as pulp-capping agents in human teeth: a preliminary report*. Int Endod J, 2003. **36**(3): p. 225-31.
219. Koh, E.T., et al., *Prophylactic treatment of dens evaginatus using mineral trioxide aggregate*. J Endod, 2001. **27**(8): p. 540-2.

220. Barrieshi-Nusair, K.M. and M.A. Qudeimat, *A prospective clinical study of mineral trioxide aggregate for partial pulpotomy in cariously exposed permanent teeth*. J Endod, 2006. **32**(8): p. 731-5.
221. Bodem, O., et al., *Direct pulp capping with mineral trioxide aggregate in a primary molar: a case report*. Int J Paediatr Dent, 2004. **14**(5): p. 376-9.
222. Hirschman, W.R., et al., *Cytotoxicity Comparison of Three Current Direct Pulp-capping Agents with a New Bioceramic Root Repair Putty*. J Endod, 2012. **38**(3): p. 385-8.
223. Maroto, M., et al., *Dentin bridge formation after white mineral trioxide aggregate (white MTA) pulpotomies in primary molars*. Am J Dent, 2006. **19**(2): p. 75-9.
224. Maroto, M., et al., *Mineral trioxide aggregate as pulp dressing agent in pulpotomy treatment of primary molars: 42-month clinical study*. Am J Dent, 2007. **20**(5): p. 283-6.
225. Salako, N., et al., *Comparison of bioactive glass, mineral trioxide aggregate, ferric sulfate, and formocresol as pulpotomy agents in rat molar*. Dent Traumatol, 2003. **19**(6): p. 314-20.
226. Srinivasan, V., P. Waterhouse, and J. Whitworth, *Mineral trioxide aggregate in paediatric dentistry*. Int J Paediatr Dent, 2009. **19**(1): p. 34-47.
227. Accorinte, M.L., et al., *Evaluation of two mineral trioxide aggregate compounds as pulp-capping agents in human teeth*. Int Endod J, 2009. **42**(2): p. 122-8.
228. Gondim, E., et al., *Investigation of the marginal adaptation of root-end filling materials in root-end cavities prepared with ultrasonic tips*. Int Endod J, 2003. **36**(7): p. 491-9.
229. Minamikawa, H., et al., *Effect of mineral trioxide aggregate on rat clonal dental pulp cells: expression of cyclooxygenase-2 mRNA and inflammation-related protein via nuclear factor kappa B signaling system*. J Endod, 2009. **35**(6): p. 843-6.
230. Paranjpe, A., et al., *Direct contact with mineral trioxide aggregate activates and differentiates human dental pulp cells*. J Endod, 2011. **37**(12): p. 1691-5.
231. Min, K.S., et al., *Effect of mineral trioxide aggregate on dentin bridge formation and expression of dentin sialoprotein and heme oxygenase-1 in human dental pulp*. J Endod, 2008. **34**(6): p. 666-70.
232. Mente, J., et al., *Mineral trioxide aggregate apical plugs in teeth with open apical foramina: a retrospective analysis of treatment outcome*. J Endod, 2009. **35**(10): p. 1354-8.
233. Peng, L., et al., *Evaluation of the formocresol versus mineral trioxide aggregate primary molar pulpotomy: a meta-analysis*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2006. **102**(6): p. e40-4.
234. Chueh, L.H., et al., *Regenerative endodontic treatment for necrotic immature permanent teeth*. J Endod, 2009. **35**(2): p. 160-4.
235. Holden, D.T., et al., *Clinical outcomes of artificial root-end barriers with mineral trioxide aggregate in teeth with immature apices*. J Endod, 2008. **34**(7): p. 812-7.
236. D'Arcangelo, C. and M. D'Amaro, *Use of MTA for orthograde obturation of nonvital teeth with open apices: report of two cases*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2007. **104**(4): p. e98-101.
237. Hayashi, M., A. Shimizu, and S. Ebisu, *MTA for obturation of mandibular central incisors with open apices: case report*. J Endod, 2004. **30**(2): p. 120-2.
238. Giuliani, V., et al., *The use of MTA in teeth with necrotic pulps and open apices*. Dent Traumatol, 2002. **18**(4): p. 217-21.
239. Al-Kahtani, A., et al., *In-vitro evaluation of microleakage of an orthograde apical plug of mineral trioxide aggregate in permanent teeth with simulated immature apices*. J Endod, 2005. **31**(2): p. 117-9.
240. Valois, C.R. and E.D. Costa, Jr., *Influence of the thickness of mineral trioxide aggregate on sealing ability of root-end fillings in vitro*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2004. **97**(1): p. 108-11.

241. Hachmeister, D.R., et al., *The sealing ability and retention characteristics of mineral trioxide aggregate in a model of apexification*. J Endod, 2002. **28**(5): p. 386-90.
242. Yildirim, T., T. Tasdemir, and H. Orucoglu, *The evaluation of the influence of using MTA in teeth with post indication on the apical sealing ability*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2009. **108**(3): p. 471-4.
243. Witherspoon, D.E., et al., *Retrospective analysis of open apex teeth obturated with mineral trioxide aggregate*. J Endod, 2008. **34**(10): p. 1171-6.
244. Jaramillo, A., R. Fernandez, and P. Villa, *Endodontic treatment of dens invaginatus: a 5-year follow-up*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2006. **101**(1): p. e15-21.
245. Karp, J., et al., *The complete endodontic obturation of an avulsed immature permanent incisor with mineral trioxide aggregate: a case report*. Pediatr Dent, 2006. **28**(3): p. 273-8.
246. Subay, R.K. and M. Kayatas, *Dens invaginatus in an immature maxillary lateral incisor: a case report of complex endodontic treatment*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2006. **102**(2): p. e37-41.
247. Saoud, T.M., et al., *Histological observations of pulpal replacement tissue in immature dog teeth after revascularization of infected pulps*. Dent Traumatol, 2015. **31**(3): p. 243-9.
248. Tawfik, H., et al., *Regenerative potential following revascularization of immature permanent teeth with necrotic pulps*. Int Endod J, 2013. **46**(10): p. 910-22.
249. Ford, T.R., et al., *Use of mineral trioxide aggregate for repair of furcal perforations*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 1995. **79**(6): p. 756-63.
250. Main, C., et al., *Repair of root perforations using mineral trioxide aggregate: a long-term study*. J Endod, 2004. **30**(2): p. 80-3.
251. Yildirim, G. and K. Dalci, *Treatment of lateral root perforation with mineral trioxide aggregate: a case report*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2006. **102**(5): p. e55-8.
252. Pace, R., V. Giuliani, and G. Pagavino, *Mineral trioxide aggregate as repair material for furcal perforation: case series*. J Endod, 2008. **34**(9): p. 1130-3.
253. Ibarrola, J.L., S.G. Biggs, and T.J. Beeson, *Repair of a large furcation perforation: a four-year follow-up*. J Endod, 2008. **34**(5): p. 617-9.
254. White, C., Jr. and N. Bryant, *Combined therapy of mineral trioxide aggregate and guided tissue regeneration in the treatment of external root resorption and an associated osseous defect*. J Periodontol, 2002. **73**(12): p. 1517-21.
255. Saunders, W.P., *A prospective clinical study of periradicular surgery using mineral trioxide aggregate as a root-end filling*. J Endod, 2008. **34**(6): p. 660-5.
256. Aqrabawi, J., *Sealing ability of amalgam, super EBA cement, and MTA when used as retrograde filling materials*. Br Dent J, 2000. **188**(5): p. 266-8.
257. Vizgirda, P.J., et al., *A comparison of laterally condensed gutta-percha, thermoplasticized gutta-percha, and mineral trioxide aggregate as root canal filling materials*. J Endod, 2004. **30**(2): p. 103-6.
258. Gancedo-Caravia, L. and E. Garcia-Barbero, *Influence of humidity and setting time on the push-out strength of mineral trioxide aggregate obturations*. J Endod, 2006. **32**(9): p. 894-6.
259. Cotti, E., M. Mereu, and D. Lusso, *Regenerative treatment of an immature, traumatized tooth with apical periodontitis: report of a case*. J Endod, 2008. **34**(5): p. 611-6.
260. Jung, I.Y., S.J. Lee, and K.M. Hargreaves, *Biologically based treatment of immature permanent teeth with pulpal necrosis: a case series*. J Endod, 2008. **34**(7): p. 876-87.
261. Ding, R.Y., et al., *Pulp revascularization of immature teeth with apical periodontitis: a clinical study*. J Endod, 2009. **35**(5): p. 745-9.

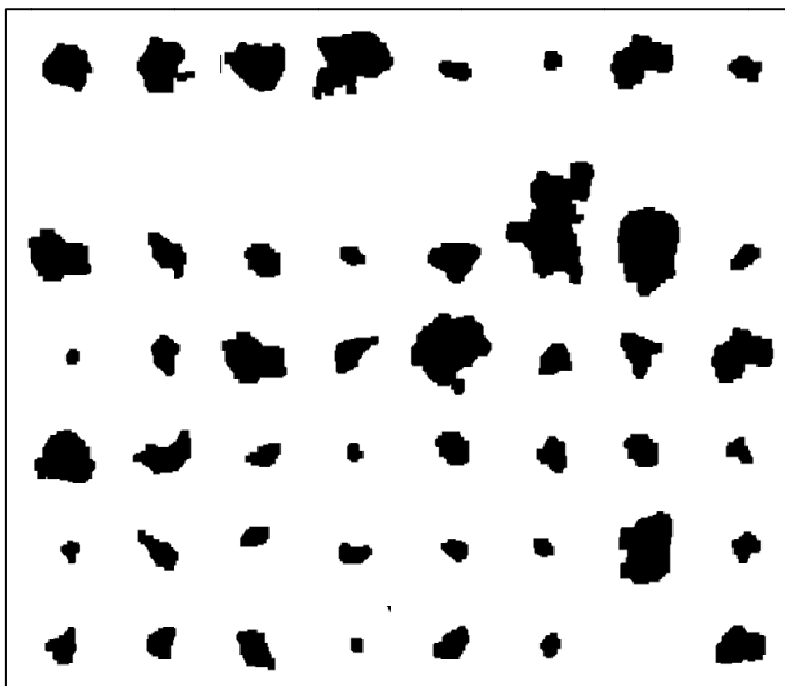
262. Tselnik, M., J.C. Baumgartner, and J.G. Marshall, *Bacterial leakage with mineral trioxide aggregate or a resin-modified glass ionomer used as a coronal barrier*. J Endod, 2004. **30**(11): p. 782-4.
263. Asgary, S., et al., *The properties of a new endodontic material*. J Endod, 2008. **34**(8): p. 990-3.
264. Bogen, G. and S. Kuttler, *Mineral trioxide aggregate obturation: a review and case series*. J Endod, 2009. **35**(6): p. 777-90.
265. Berger, T., A.Z. Baratz, and J.L. Gutmann, *In vitro investigations into the etiology of mineral trioxide tooth staining*. J Conserv Dent, 2014. **17**(6): p. 526-30.
266. Parirokh, M., et al., *A comparative study of white and grey mineral trioxide aggregate as pulp capping agents in dog's teeth*. Dent Traumatol, 2005. **21**(3): p. 150-4.
267. Ferris, D.M. and J.C. Baumgartner, *Perforation repair comparing two types of mineral trioxide aggregate*. J Endod, 2004. **30**(6): p. 422-4.
268. Al-Hezaimi, K., et al., *MTA preparations from different origins may vary in their antimicrobial activity*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2009. **107**(5): p. e85-8.
269. Weldon, J.K., Jr., et al., *Sealing ability of mineral trioxide aggregate and super-EBA when used as furcation repair materials: a longitudinal study*. J Endod, 2002. **28**(6): p. 467-70.
270. De Bruyne, M.A. and R.J. De Moor, *Influence of cracks on leakage and obturation efficiency of root-end filling materials after ultrasonic preparation: an in vitro evaluation*. Quintessence Int, 2008. **39**(8): p. 685-92.
271. Economides, N., et al., *Short-term periradicular tissue response to mineral trioxide aggregate (MTA) as root-end filling material*. Int Endod J, 2003. **36**(1): p. 44-8.
272. Jenkins, S., et al., *Sealing ability of three materials in the orifice of root canal systems obturated with gutta-percha*. J Endod, 2006. **32**(3): p. 225-7.
273. Peters, C.I. and O.A. Peters, *Occlusal loading of EBA and MTA root-end fillings in a computer-controlled masticator: a scanning electron microscopic study*. Int Endod J, 2002. **35**(1): p. 22-9.
274. Roy, C.O., B.G. Jeansonne, and T.F. Gerrets, *Effect of an acid environment on leakage of root-end filling materials*. J Endod, 2001. **27**(1): p. 7-8.
275. Maltezos, C., et al., *Comparison of the sealing of Resilon, Pro Root MTA, and Super-EBA as root-end filling materials: a bacterial leakage study*. J Endod, 2006. **32**(4): p. 324-7.
276. Davis, J.L., et al., *The effect of irrigation with doxycycline or citric acid on leakage and osseous wound healing*. J Endod, 2003. **29**(1): p. 31-5.
277. Vargas, J.W., et al., *A comparison of the in vitro retentive strength of glass-ionomer cement, zinc-phosphate cement, and mineral trioxide aggregate for the retention of prefabricated posts in bovine incisors*. J Endod, 2004. **30**(11): p. 775-7.
278. Schindelin, J.A.-C., I. & Frise, E, *Fiji: an open-source platform for biological-image analysis*. Nature methods, 2012. **9**(7): p. 676-682.
279. Nock, R. and F. Nielsen, *Statistical region merging*. IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell, 2004. **26**(11): p. 1452-8.
280. Herrera, A., *A new measure of circularity based on distribution of the radius*. Computación y Sistemas, 2013. **17**(4): p. 515-26.
281. McDonald, J.H., *Handbook of Biological Statistics*. Tercera edición ed. 2014, Baltimore, Maryland.: Sparky House Publishing.
282. Cortés-Gabaudan F, U.-B.J., *Dicciomed.eusal.es. Diccionario médico-biológico, histórico y etimológico*. 2011: p. <http://dicciomed.eusal.es>
283. Landis, J.R. and G.G. Koch, *The measurement of observer agreement for categorical data*. Biometrics, 1977. **33**(1): p. 159-74.

284. Ghorbanzadeh, A., et al., *An In Vitro Comparison of Marginal Adaptation of MTA and MTA-Like Materials in the Presence of PBS at One-Week and Two-Month Intervals*. J Dent (Tehran), 2014. **11**(5): p. 560-8.
285. Salem Milani, A., et al., *Effect of Blood Contamination on Marginal Adaptation and Surface Microstructure of Mineral Trioxide Aggregate: A SEM Study*. J Dent Res Dent Clin Dent Prospects, 2013. **7**(3): p. 157-63.
286. González-Losada, C., *Estudio in vitro de la interfase entre el agregado trióxido mineral y la dentina*, in *Departamento de Odontología Conservadora*. 2004, Universidad Complutense (Madrid): Madrid
287. Albadalejo, *Método de preparación del espécimen para evaluar la micromorfología de la interfase adhesiva reina-dentina con un microscopio electrónico de barrido*. Av Odontoestomatol, 2007. **23**(4): p. 197-206.
288. Neelakantan, P., et al., *Antibiofilm activity of three irrigation protocols activated by ultrasonic, diode laser or Er:YAG laser in vitro*. Int Endod J, 2014.
289. Keskin, C., E.O. Demiryurek, and T. Ozyurek, *Color Stabilities of Calcium Silicate-based Materials in Contact with Different Irrigation Solutions*. J Endod, 2015. **41**(3): p. 409-11.
290. Ingham, C.J., J. ter Maat, and W.M. de Vos, *Where bio meets nano: the many uses for nanoporous aluminum oxide in biotechnology*. Biotechnol Adv, 2012. **30**(5): p. 1089-99.
291. Ahmed, T., et al., *Polyhydroxybutyrate and its copolymer with polyhydroxyvalerate as biomaterials: influence on progression of stem cell cycle*. Biomacromolecules, 2010. **11**(10): p. 2707-15.
292. Allena, R. and D. Aubry, *'Run-and-tumble' or 'look-and-run'? A mechanical model to explore the behavior of a migrating amoeboid cell*. J Theor Biol, 2012. **306**: p. 15-31.
293. Komabayashi, T., et al., *Comparison of particle morphology between commercial- and research-grade calcium hydroxide in endodontics*. J Oral Sci, 2014. **56**(3): p. 195-9.

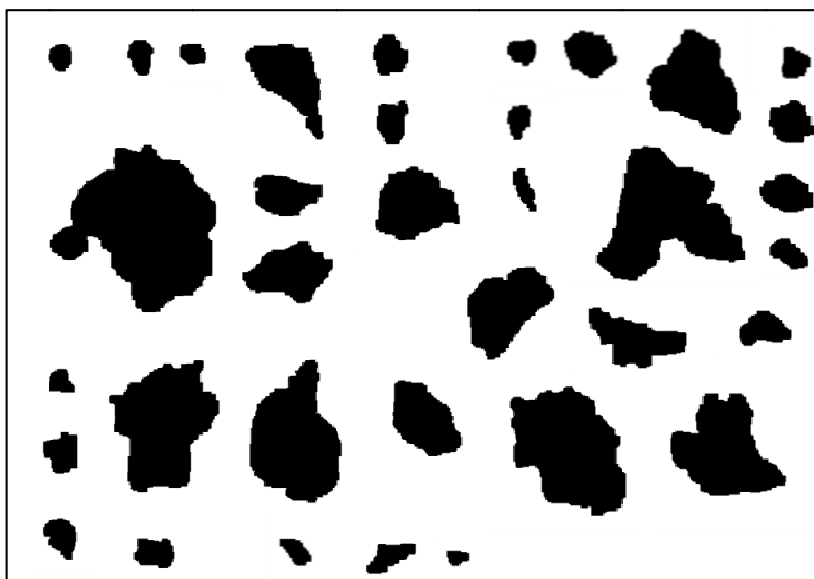
ANEXOS

ANEXO 1. IMÁGENES DE PARTÍCULAS DE MTA

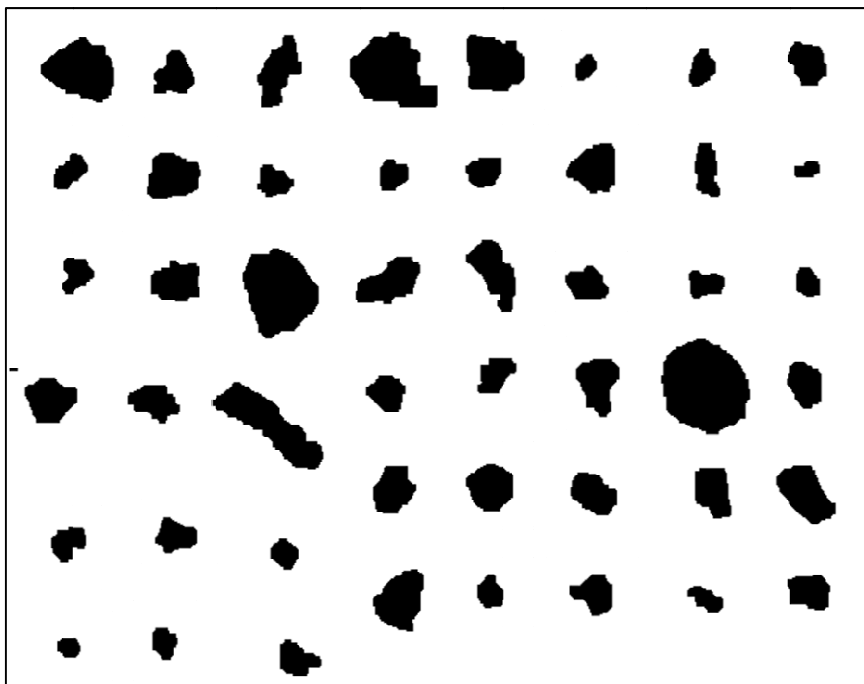
AB X500



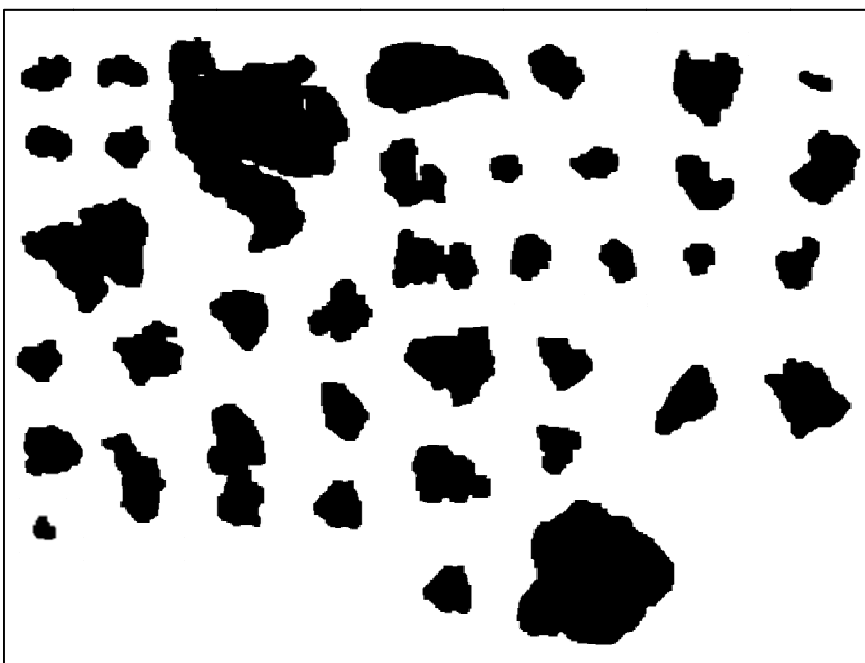
AB x1500



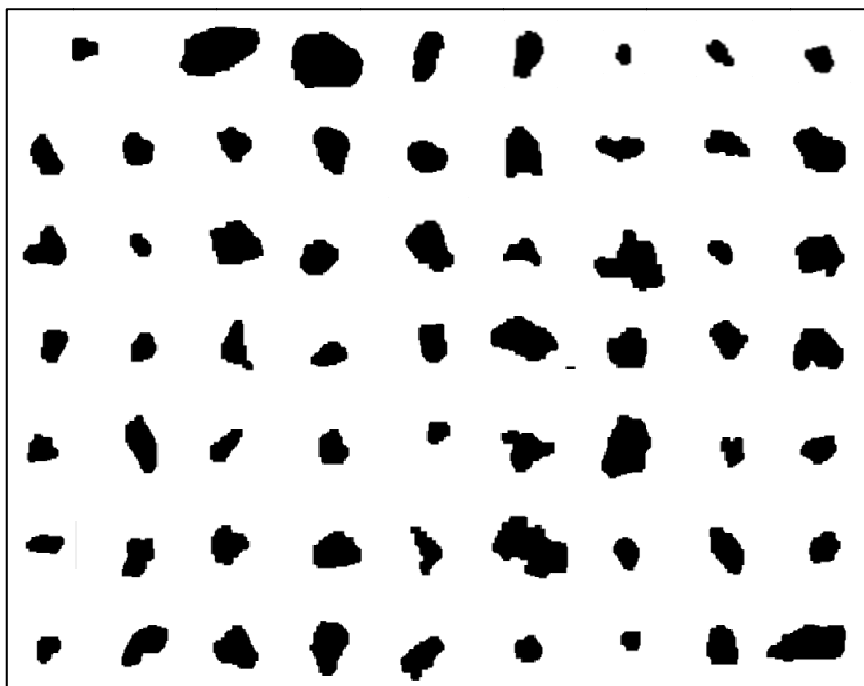
AG x500



AG x1500



P x500



P x1500



ANEXO 2. PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN QUE SE MANDÓ AL COMITÉ DE ENSAYOS CLÍNICOS

“Análisis del comportamiento de dos tipos de Agregado Trióxido Mineral (MTA) en relación a variaciones en su composición”

Centro del Estudio

Departamento de Odontología Conservadora
Facultad de Odontología. Universidad Complutense de Madrid
Pza. Ramón y Cajal s/n. 28040 Madrid (España)

Investigador-coordinador

Dr. Ernesto García Barbero
Dpto. Odontología Conservadora. Facultad de Odontología.
Universidad Complutense de Madrid. Pza. Ramón y Cajal s/n. 28040
Madrid (España)
e-mail: egarciab@odon.ucm.es

Investigadores

Ana Antoranz Pereda NIF: 51454010-C

Fundamento

El agregado trióxido mineral (MTA) es un material desarrollado en la Universidad de Loma Linda (California). Se presentó en la literatura endodóntica en el año 1993 como un cemento capaz de sellar cualquier vía de comunicación entre el espacio pulpar y los tejidos perirradiculares y de obtener una respuesta favorable en los tejidos con los que entra en contacto. Inicialmente este material se comercializó con el nombre de ProRoot-MTA® (Dentsply-Maillefer).

En la actualidad existe un segundo producto comercializado como MTA, llamado MTA Ángelus® (Ángelus. Odonto-Lógika. Brasil) al que se le atribuyen características similares a las del ProRoot® MTA. Según sus fabricantes la principal ventaja de este nuevo material respecto al anterior es que cuenta con un menor tiempo de fraguado al presentar sulfato cálcico en su composición.

Objetivos del estudio

Comprobar si la composición del ProRoot® MTA y MTA Ángelus® influye en el comportamiento del material en cuanto a: composición, tamaño y forma de las partículas que lo integran, adaptación dentina y posible cambio de color.

Período de estudio

Fecha de inicio: octubre de 2012
Fecha de final: junio de 2013

Metodología

El análisis de la composición de ProRoot® MTA y MTA Ángelus® se llevará a cabo mediante espectrometría de dispersión de energías de rayos X y por difracción de rayos X con un microscopio de transmisión.

El análisis de la superficie de ProRoot® MTA y MTA Ángelus® y de la interfase MTA-dentina o MTA-material de restauración, se realizará con microscopía electrónica de barrido, observando el material introducido en cavidades preparadas en dentina radicular de dientes extraídos.

La unión de ProRoot® MTA y MTA Ángelus® a dentina y otros materiales de restauración se medirá utilizando diferentes pruebas de tracción y compresión, también con obturaciones preparadas sobre dientes extraídos.

Criterios de inclusión

Serán pacientes elegibles hombres o mujeres, que presenten pieza/s dentales con indicación de extracción por motivos periodontales. El paciente o tutor legal deberá aceptar participar en el estudio, mediante la firma del consentimiento informado.

Publicación de los resultados del estudio

La información y los datos clínicos recogidos de los pacientes para la realización de este estudio se consideran confidenciales.

La lista de autores estará aprobada por todos los investigadores del estudio antes de la publicación. Los nombres de los autores se proporcionan según su participación en el diseño del protocolo, así como en el reclutamiento de pacientes elegibles y analizables.

* Los objetivos del trabajo se variaron a:

El análisis de la composición de ProRoot® MTA y MTA Ángelus® se llevará a cabo mediante espectrometría de dispersión de energías de rayos X y por difracción de rayos X.

El análisis de las partículas que integran los MTA se realizará mediante microscopía electrónica de barrido.

Para el estudio de la interfase MTA-dentina se utilizará un microscopio óptico, mediante el cual se observará el MTA introducido en cavidades preparadas en dentina radicular de dientes extraídos.

El cambio de color del MTA se medirá con el estudio de fotografías realizadas a los discos de dentina con MTA y el programa de imagen Just ImageJ.

ANEXO 3. APROBACIÓN DEL COMITÉ DE ENSAYOS CLÍNICOS



Informe Dictamen Protocolo Favorable

C.P. - C.I. 12/203-E

10 de mayo de 2012

CEIC Hospital Clínico San Carlos

Dra. Mar García Arenillas
Secretaria del CEIC Hospital Clínico San Carlos

CERTIFICA

1º. Que el CEIC Hospital Clínico San Carlos en su reunión del día 09/05/2012, acta 5.1/12 ha evaluado la propuesta del promotor referida al estudio:

Título: "Análisis del comportamiento de dos tipos de Agregado Trióxido Mineral (MTA) en relación a variaciones en su composición"

Que en este estudio:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.
- La capacidad del investigador y los medios disponibles son adecuados para llevar a cabo el estudio.
- Se cumplen los preceptos éticos formulados en la Orden SAS 3470/2009 y la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica mundial sobre principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos y en sus posteriores revisiones, así como aquellos exigidos por la normativa aplicable en función de las características del estudio.

Es por ello que el Comité informa favorablemente sobre la realización de dicho proyecto por la **Dra. Ana Antoranz Pereda** de la Facultad de Medicina, Dpto. Odontología Conservadora de la Universidad Complutense de Madrid como investigadora principal.

Lo que firmo en Madrid, a 10 de mayo de 2012



Dra. Mar García Arenillas
Secretaria del CEIC Hospital Clínico San Carlos

ANEXO 4. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Nos gustaría invitarle a participar en un estudio de investigación. Antes de que se decida a ello, es importante que entienda por qué se está realizando esta investigación y lo que supondrá. Tómese el tiempo necesario para leer detenidamente la información. Una vez que se le explique el estudio y que usted se decida a participar, se le pedirá que firme este impreso. Si no tomara parte del mismo, el nivel de tratamiento que reciba, tanto ahora como en el futuro, no resultará afectado de modo alguno. El estudio que le estamos proponiendo es el siguiente:

“Análisis del comportamiento de dos tipos de Agregado Trióxido Mineral (MTA) en relación a variaciones en su composición”

Finalidad del estudio

El MTA es un material que se utiliza en algunas situaciones del tratamiento endodóntico. Sirve para sellar las raíces de los dientes cuando no es posible utilizar los materiales convencionales.

Nuestro propósito es comprobar si la composición de dos preparados comerciales de MTA (ProRoot® MTA y MTA Ángelus®) influye en el comportamiento del material cuando se aplica sobre la dentina radicular. Para ello es necesario realizar una serie de pruebas in vitro sobre dientes recién extraídos.

¿Qué supondrá su participación en el estudio?

Formar parte del estudio supondría entregar a los miembros del equipo del estudio su diente recién extraído para poder proceder a la realización de los ensayos pertinentes.

Para ello, antes de realizar la extracción el odontólogo confirmará si usted reúne las características apropiadas para participar en el estudio. Para ello, tendrá que:

- Verificar que usted ha firmado un impreso de consentimiento para el tratamiento, antes de que se le realice cualquier prueba.
- Realizar una exploración oral para confirmar la existencia de una o más piezas dentales a extraer. Ante esta situación, se le informará de la posibilidad de participar en el estudio.

¿Cuáles son los riesgos?

Los riesgos serían los propios de una extracción dental. Esto supondría la posibilidad de que en los siguientes días pudiera haber dolor, inflamación e infección local, que será tratada farmacológicamente. Pudieran aparecer hematomas locales.

Embarazo

Las pacientes no podrán estar ni embarazadas ni en el periodo de lactancia en el momento de la extracción dental.

Confidencialidad

Durante el estudio, a cada diente se le identificará con un número. La identidad de cada paciente no será revelada en caso de que se publiquen los resultados de este estudio. Sus historias clínicas se mantendrán de manera confidencial y se archivarán en el centro durante un periodo de, aproximadamente, 15 años. Le pedimos su consentimiento para que el personal integrante del estudio pudiera revisar su historia clínica.

No está obligado a participar

La participación en este ensayo es totalmente voluntaria y usted es libre de negarse a participar. Deberá basar su decisión en lo que le hemos explicado y en lo que ha leído acerca del estudio. Si no participara, el nivel de asistencia que reciba no se verá afectado.

Los miembros del equipo de investigación responderán a las preguntas que tenga sobre el estudio en cualquier momento.

Contactos para información adicional

Los investigadores responsables de este estudio son:

Dr. Ernesto García Barbero

Dra. Ana Antoranz Pereda.

Número de teléfono: 913942006

Si tiene alguna pregunta antes de que se decida a participar en el estudio, o en cualquier otro momento, no dude en contactar con cualquier miembro del equipo de investigación.

Protección de datos.

Este estudio se rige por la Ley Orgánica 15/1999, del 13 de Diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal.

DECLARACIÓN Y FIRMA DEL PACIENTE

“Análisis del comportamiento de dos tipos de Agregado Trióxido Mineral (MTA) en relación a variaciones en su composición”

Yo, _____, he leído la información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas y he recibido información sobre el estudio.

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio: **Por favor marque con un círculo**

- Cuando quiera
- Sin tener que dar explicaciones
- Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Acepto que toda mi información recogida hasta el momento de mi abandono pueda ser analizada.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio. Presto además libremente mi conformidad para que el Doctor _____ recoja y analice mi información y acepto que ésta pueda ser utilizada para una futura investigación médica.

Por la presente, otorgo mi consentimiento informado y libre para participar en esta investigación.

FIRMA DEL PACIENTE

Nombre y Apellidos

FECHA

Yo, _____, he comentado este estudio de investigación con el paciente en un lenguaje comprensible e idóneo. Considero que he informado completamente al participante de la naturaleza del estudio y de los posibles beneficios y riesgos derivados del mismo, y creo que el participante ha comprendido esta explicación. He entregado una copia de este documento fechada y firmada al paciente.

FIRMA DEL INVESTIGADOR

Nombre y Apellidos

FECHA